Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. A. Hirsch

Radioimmunologische Bestimmung von 5α-Pregnan-3,20-Dion in der Plazenta und den fetalen Membranen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
DIETRICH BÖHME
aus Eberswalde

1985

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546526_0006

Aus der Frauenklinik der Universität Tübingen
Geschäftsführender Direktor: Professor Dr. H. A. Hirsch

Radioimmunologische Bestimmung von 5∝-Pregnan-3,20-Dion in der Plazenta und den fetalen Membranen

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
(Klinische Medizin)
der Eberhard-Karls-Universität
Tübingen

vorgelegt von
DIETRICH BÖHME
aus Eberswalde

1985

Dekan:	Professor Dr. W. Schulte
1. Berichterstatter:	Professor Dr. A. E. Schindler
2. Berichterstatter:	Privatdozent Dr. H. Moeller

Druck: Zeeb-Druck, Tübingen 7 (Hagelloch)

Meinen Eltern in Dankbarkeit

Herrn Professor Dr. med. A. E. Schindler danke ich für die Überlassung des Themas, für die gute Betreuung der Arbeit und die stets prompte Beratung.
Den Mitarbeitern des Endokrinologischen Labors der Universitäts-Frauenklinik Tübingen, besonders Herrn Dipl. chem. M. Zwirner, schulde ich Dank für ihre praktische Anleitung bei der Durchführung der Experimente und ihren Rat,
Frau Pietsch und Herrn Teufel von der Abteilung für Medizinische Dokumentation und Datenverarbeitung an der Chirurgischen Universitätsklinik Tübingen für die Bearbeitung der Auswertungsaufträge.
Besonderer Dank gilt meiner Frau, deren Hilfe ich für die mühsame Schreibarbeit in Anspruch genommen habe.

INHALTSVERZEICHNIS

		Seite
1.	EINLEITUNG	1
1.1.	Theorien einer hormonalen Geburtsauslösung	1
1.1.1.	Östrogen-Entzugstheorie	1
1.1.2.	Theorie der fetalen Cortisolproduktion	1
1.1.3.	Oxytocin-Theorie	2
1.1.4.	Progesteron-Entzugstheorie	2
1.1.5.	Theorie des lokalen Progesteronblocks	3
1.1.6.	Prostaglandin-Theorie	4
1.2.	Kritische Beurteilung der Theorien einer hormonalen Geburtsauslösung	6
1.3.	Bedeutung der Fetalen Membranen und der Plazenta bei der Geburtsauslösung	7
1.4.	Bedeutung des Progesteronstoffwechsels bei der Geburtsauslösung	7
1.4.1.	Progesteronsynthese	8
1.4.2.	Progesteronabbau	8
1.4.2.1.	Gewebekonzentrationen	8
1.4.2.2.	Enzymaktivitäten	9
1.4.3.	Räumliche Verteilung des Progesteron	10
1.4.4.	Progesteronbindendes Protein	10
1.4.5.	Progesteronrezeptoren	10
1.5.	Einführung in die vorliegende Untersuchung	11
2.	PROBLEMSTELLUNG	13
3.	MATERIAL	14
3.1.	Probandenkollektiv	14
3.2.	Apparate, Gefäße und Hilfsmaterial	14
3.3.	Chemikalien	15
3.4.	Lösungen	16
4.	METHODEN	18
4.1.	Aufbereitung des Gewebes	18
4.1.1.	Gewebepräparation	18
4.1.2.	Homogenisierung des Gewebes	18

		Seite
4.1.3.	Herstellung eines flüssigen Homogenates .	19
4.1.4.	Zusammenfassung	19
4.2.	Bestimmung des 5α-DHP	21
4.2.1.	Festlegung des Extraktionsvolumens	21
4.2.2.	Recovery-Tracer	21
4.2.2.1.	Reinigung des Ur-Tracers	21
4.2.2.2.	Herstellung eines Recovery-Tracers	22
4.2.2.3.	Zugabe des Recovery-Tracers zum Homogenat	22
4.2.3.	Hormonextraktion	23
4.2.4.	Säulenchromatographische Trennung	23
4.2.4.1.	Vorbereitung der Säulen	23
4.2.4.2.	Festlegung der Elutionsfraktionen	24
4.2.4.3.	Trennung der extrahierten Steroide	25
4.2.4.4.	Aufnahme des 5α-DHP in Äthanol	25
4.2.5.	Bestimmung der individuellen Wiederfindung	25
4.2.6.	Zusammenfassung der Extraktion, Säulenchromatographie, Äthanolaufnahme und Wiederfindungsbestimmung	26
4.2.7.	Radioimmunassay	28
4.2.7.1.	Standardlösungen	28
4.2.7.2.	RIA-Tracer	28
4.2.7.3.	Antiserum	28
4.2.7.3.1.	Herstellung	28
4.2.7.3.2.	Verdünnung	29
4.2.7.3.3.	Kreuzreaktionen	29
4.2.7.4.	Inkubationszeit	29
4.2.7.5.	Durchführung des Radioimmunassay	29
4.2.7.6.	Qualitätskontrollen	32
4.2.8.	Berechnung der 5α-DHP-Konzentration	33
4.3.	Proteinbestimmung	33
4.4.	Datenerhebung/Erhebungsheft	34
4.5.	Statistische Auswertung	40
5.	ERGEBNISSE	41
5.1.	Ergebnisse der Vorversuche	41
5.1.1.	Elutionsfraktionen der Säulenchromatographie	41

		Seite
5.1.2.	Antikörpertiter	42
5.1.3.	Kreuzreaktivität des Antiserums 110	42
5.1.4.	Inkubationszeit	44
5.1.5.	RIA-Standardkurve	45
5.2.	Einzelergebnisse der 5α-DHP- und Proteinbestimmung	46
5.3.	Vergleich der 5α-DHP-Konzentrationen in den drei untersuchten Gewebearten	48
5.4.	Relation der 5α-DHP-Konzentration zum Proteingehalt	51
5.5.	Relation der 5α-DHP-Konzentration zum Progesterongehalt	53
5.6.	Abhängigkeit der 5α-DHP-Konzentration von geburtshilflichen Daten	55
5.6.1.	Daten der Mutter	57
5.6.2.	Daten des Neugeborenen	69
5.6.3.	Daten des Geburtsverlaufs	77
5.6.4.	Daten der Plazenta	84
5.7.	Kasuistik einer Drillingsgeburt	86
6.	DISKUSSION	88
7.	ZUSAMMENFASSUNG	93
8.	LITERATURVERZEICHNIS	95

ABKÜRZUNGEN

CPM	= counts per minute = Zählausbeute pro Minute
5α-DHP	= 5α-Dihydroprogesteron = 5α-Pregnan-3,20-dion
E_3	= Freies Östriol
HCS(HPL)	= Humanes Chorion-Somatotropin
	= Humanes Plazenta-Lactogen
n	= Anzahl der Proben bzw. Fälle
RIA	= Radioimmunassay
RR	= Arterieller Blutdruck, gemessen nach Riva-Rocci
SS	= Schwangerschaft
SSW	= Schwangerschaftswoche

1. EINLEITUNG

Mindestens seit HIPPOKRATES (460-377 v. Chr.), der die Auslösung der Geburt dem in eine intrauterine Mangelernährungslage geratenen Feten zuschrieb, wird versucht, die Ursache des Geburtsbeginns aufzuklären.
Heute existiert eine große Anzahl von sich teilweise auch ergänzenden Theorien, die den Wehenbeginn als Effekt mechanischer, nervaler oder biochemischer Mechanismen darstellen.
Weder eine einzelne noch die Gesamtheit der theoretischen Vorstellungen kann die Ursache der Geburtswehenaktivität, die nach einer artspezifisch relativ konstanten Tragzeit einsetzt, vollständig erklären.

1.1. Theorien einer hormonalen Geburtsauslösung

Die Annahme einer endokrinologischen Steuerung des Wehenbeginns führte zur Formulierung von sechs, zum Teil noch heute diskutierten Hypothesen:

1.1.1. Östrogen-Entzugstheorie

COHEN et al. (1935) postulierten einen wehenauslösend wirksamen Östrogenentzug. Es ist jedoch eine bis zur Geburt unveränderte Östrogenproduktion nachgewiesen worden (WARKETIN (1980)).

1.1.2. Theorie der fetalen Cortisolproduktion

MURPHY (1973) prüfte die Übertragbarkeit entsprechender tierexperimenteller Befunde auf den Menschen und sah die Ansicht bestätigt, daß die fetale Hypothalamus-Hypophysen-Nebennierenrinden-Achse eine weheneinleitende Funktion ausüben kann. Von welchen biochemischen und physiologischen Reaktionen dieser Triggereffekt gefolgt ist, blieb dabei aber offen.

1.1.3. Oxytocin-Theorie

Von verschiedener Seite wurde dem Oxytocin eine zentrale Rolle beim Geburtsbeginn beigemessen. So von SMYTH (1958) und MÜLLER (1958), die eine Proportionalität zwischen Schwangerschaftsdauer und Ansprechbarkeit des Myometriums auf Oxytocin fanden. SEMM (1960) ermittelte andererseits die Konzentration des in der Plazenta gebildeten, oxytocinabbauenden Enzyms Oxytocinase, dessen Spiegel zum Zeitpunkt der Geburt ihr Maximum aufweisen. Eine erhöhte Oxytocinaseaktivität wirkt antagonistisch zur gesteigerten myometrialen Reaktionsbereitschaft, indem sie durch Abschwächung der Oxytocineffekte die Schwangerschaft erhält und die Geburtswehen unterdrückt.
GIBBENS und CHARD (1976) zeigten durch neuere Untersuchungen eine stoßweise Abgabe von Oxytocin ins mütterliche Blut bei Geburtsbeginn auf.

1.1.4. Progesteron-Entzugstheorie

Die in der Schwangerschaft auf ein Vielfaches gesteigerte, zunächst durch das corpus luteum graviditatis, später durch die Plazenta aufrechterhaltene Inkretion von Progesteron hat graviditätserhaltende Funktion. Die naheliegende Vermutung, die Beendigung der Schwangerschaft bzw. der Beginn der Wehentätigkeit werde durch Nachlassen der Progesteronabgabe herbeigeführt, konnte tierexperimentell weitgehend bestätigt werden (BEDFORD (1972)). Bei den meisten Säugetierspezies fand sich ein teilweise dramatischer antepartaler Abfall der Progesteronkonzentration im mütterlichen Plasma. Die Übertragung dieser Ergebnisse auf den Menschen erwies sich jedoch als unzulässig. Beim Menschen steigt der Plasmaprogesteronspiegel der Mutter bis zum Zeitpunkt der Geburt unvermindert an (KLOPPER (1980), JIRASEK (1980)). Eine Beteiligung des Progesteronstoffwechsels an der Geburtsauslösung ist damit aber keineswegs ausgeschlossen. In diesem Zusammenhang wiesen THAU und LANMANN (1975) sowie LAATIKAINEN et al. (1981)

auf die Wichtigkeit einer Differenzierung zwischen Blut- und Gewebespiegeln von Progesteron hin. LAATIKAINEN et al. (1981) fanden, obwohl im gleichen Zeitraum der Blutspiegel erheblich steigt, bei Messungen der Progesteronspiegel im Plazentagewebe keinen Unterschied zwischen Früh- und Spätschwangerschaft. Sie erklärten die während der Gravidität steigenden Plasmaspiegel als Effekt der Massenzunahme des hormonsynthetisierenden Gewebes. Da das Hormon vom Syntheseort direkt in das angrenzende Myometrium eintritt, den Wirkungsort also nicht über die Blutbahn erreicht, erscheint der Rückschluß vom Plasmaspiegel auf den Gewebespiegel problematisch. Auch im Falle der Eihäute, denen eine wichtige Rolle bei der Geburtsinduktion zugesprochen wird (MILEWICH et al. (1977[1]), DIAZ-ZAGOYA et al. (1979), GIBB et al. (1980), LAATIKAINEN et al. (1981), läßt eine Bestimmung des Blutwertes keine Aussage über den Hormonhaushalt des Gewebes zu. Amnion und Chorion sind nämlich weder von mütterlicher noch von fetaler Seite her vaskularisiert. Die Tatsache, daß mit hochdosierten Injektionen von Progesteron am Schwangerschaftsende die Wehen nicht verhindert werden können, scheint der Vorstellung eines Progesteronentzugs zunächst zu widersprechen, ließe sich jedoch mit der Annahme eines lokal begrenzten Progesteronabfalls durchaus vereinbaren, zumal nachgewiesen werden konnte, daß Progesteron-Gewebespiegel, wie sie lokal im Myometrium durch die Plazentaaktivität erreicht werden, selbst mit hohen systemischen Gaben nicht hergestellt werden können (THAU und LANMANN (1975)).

1.1.5. Theorie des lokalen Progesteronblocks

Auf die experimentelle Hemmbarkeit der Uterusmotilität durch lokale Applikation von Progesteron stützte CSAPO (1956) seine Theorie der lokalen Wehenblockade durch Progesteron. Für entscheidend hielt er dabei das Verhältnis von der Plazenta anliegendem und damit hohen Pro-

gesteron-Konzentrationen ausgesetztem zu plazentafernem Myometrium. Da der Uterus stärker wächst als die Plazenta, unterschreite dieses Verhältnis am Schwangerschaftsende einen Schwellenwert. Durch Überwiegen des nicht durch Progesteron blockierten Uterusanteils käme es in der Folge zu Kontraktionen, die bald die Qualität von Geburtswehen erreichten.
JUNG (1956) führte zur Bestätigung dieser Theorie die Beobachtung an, daß am Rattenuterus im Bereich der Plazentahaftstelle Erregungsbildung und Erregungsleitung behindert sind.
Die Gültigkeit der experimentellen Befunde von CSAPO und JUNG ist inzwischen angezweifelt worden.
Auf der anderen Seite wurden in den letzten Jahren Veränderungen im Progesteronmetabolismus auf lokaler Ebene wieder verstärkt als Geburtsauslösemechanismen diskutiert (PULKKINEN et al. (1972), GUSTAVII (1975), SCHWARZ et al. (1976), MILEWICH et al. (1977^1, 1977^2, 1978, 1979), MACDONALD et al. (1978), FERRE et al. (1978), DIAZ-ZAGOYA et al. (1979), GIBB et al. (1980), LAATIKAINEN et al. (1981)).

1.1.6. Prostaglandin-Theorie

Mit intravenöser, oraler, intraamniotischer und intravaginaler Applikation von Prostaglandin E_2 lassen sich Wehen induzieren, und zwar auch vor Ende der artspezifisch determinierten Tragzeit (LIGGINS et al. (1977), MACDONALD et al. (1978), NOVY und LIGGINS (1980)).
Umgekehrt läßt sich vorzeitige Wehentätigkeit mit Prostaglandinsynthesehemmern wie Indometacin unterdrücken (GRELLA und ZANOR (1978)). SHARMA und Mitarbeiter (1973) konnten jeweils 14-45 sec. nach einer Wehe maximale Prostaglandinspiegel im Cubitalvenenblut nachweisen. Ebenso steigen die Konzentrationen der Prostaglandine E_2 und $F_{2\alpha}$ im Fruchtwasser während der Kontraktionen an (NOVY und LIGGINS (1980)). Für die Prostaglandin-Beteiligung am kom-

plexen Geschehen des Geburtseintritts existieren also eindrucksvolle Beweise.
Die Prostaglandinsynthese stellt eine Kette von Reaktionen dar. Ausgangspunkt ist die Phospholipase A_2, wobei aber noch ungeklärt ist, durch welchen Mechanismus dieses Enzym vor dem Wehenbeginn aktiviert bzw. während der Gravidität blockiert wird.
GUSTAVII (1972 und 1975) vermutet, daß durch Progesteronabfall, Östrogenanstieg oder hypoxische Azidose eine Deciduazelldegeneration eintritt, die dann eine Freisetzung der Phospholipase A_2 aus Lysosomen zur Folge hat.
SCHWARZ et al. (1976) fanden im Zytosol von Amnion und Chorion laeve ab der 38. Schwangerschaftswoche ein progesteronbindendes Protein. Mit MACDONALD et al. (1978) sehen sie in der Bindung des Hormons einen Ausfall seiner Funktion als Inhibitor der Phospholipase A_2. Danach wäre ein De-facto-Progesteronentzug vom Wirkort Ausgangspunkt der Prostaglandinsynthesekette.
Einen vergleichbaren Effekt hätte die von FERRE et al. (1978) zur Diskussion gestellte Beobachtung, daß bei Schwangeren in der 39. Schwangerschaftswoche vor Einsetzen der Wehen der Quotient Östradiol : Progesteron in der Plazenta einen viel geringeren Wert erreicht als im angrenzenden Myometrium. Daraus schließen sie auf ein Diffusionshindernis für Progesteron, etwa in Form einer Bindung des Hormons in der Plazenta, während Östradiol frei diffundieren kann.
Ebenfalls einen lokalen Progesteronentzug als Starter der Prostaglandinsynthese, aber über Veränderungen der Enzymaktivität des Progesteronstoffwechsels vermittelt, erörtern MILEWICH et al. (1977[2]).
Demgegenüber betrachtet JIRASEK (1980) eine durch Diabetes insipidus des Feten bewirkte Hypotonizität des Fruchtwassers mit folgender Degeneration des Amnionepithels und Freisetzung von Prostaglandinen als unmittelbare Ursache des Wehenbeginns. Diese These impliziert, daß schon vor

Einsetzen der Zelldegeneration eine Prostaglandinsythese in großem Umfang stattgefunden und zu einem beträchtlichen Bestand an Prostaglandinen im Amniongewebe geführt hat. Eine wissenschaftliche Überprüfung dieser Vorstellung steht noch aus.

1.2. Kritische Beurteilung der Theorien einer hormonalen Geburtsauslösung

Keine der dargestellten biochemischen Hypothesen konnte bisher wissenschaftlich als der tatsächlich zum Geburtseintritt führende Mechanismus bestätigt werden. Ebensowenig gelang dies hinsichtlich der Theorien einer nervalen oder mechanischen Steuerung.
Fraglich ist auch, ob einer der genannten Vorgänge alleine wehenauslösend wirken kann, oder ob sich nicht vielmehr die Wehenursache aus mehreren mechanischen, nervalen oder metabolischen Komponenten konstituiert.
Ein wichtiger Aspekt des Weheneintritts scheint bisher nicht ausreichend berücksichtigt worden zu sein: Die Umwandlung des nahezu inaktiven, als Brutraum dienenden Uterus in einen leistungsfähigen und hochaktiven Hohlmuskel vollzieht sich innerhalb von wenigen Stunden. Bezogen auf eine Tragzeit von 280 Tagen muß die Anbahnung des Geburtsbeginns deshalb als plötzlich angesehen werden, was auch klinisch und tokographisch bestätigt werden kann.
Der sprunghafte Qualitäts- und Quantitätswandel der Uterusaktivität von Schwangerschafts- zu Geburtswehen müßte seine Entsprechung haben in einer relativ dramatischen Änderung der diese Entwicklung bedingenden nervalen, mechanischen oder metabolischen Faktoren.
Nach einer unmittelbaren Ursache für das Zustandekommen von Geburtswehen muß deshalb weiter geforscht werden. Die Suche muß Uterus und Fetus ebenso einbeziehen wie Plazenta und Eihäute.

1.3. Bedeutung der Fetalen Membranen und der Plazenta bei der Geburtsauslösung

Angesichts der Verknüpfungen zwischen der auch mütterliche Anteile umfassenden Plazenta und dem Feten bei der Hormonsynthese verwandte DICZFALUSY (1962) die Bezeichnung "Fetoplazentare Einheit" . Dieser Ausdruck scheint möglicherweise auch im Hinblick auf die kooperativen Leistungen der genannten Gewebe bei der Auslösung der Geburt Berechtigung zu besitzen. In Erweiterung sprechen MACDONALD et al. (1978) von einem "Fetus-Fruchtwasser-Fetale Membranen-Decidua-Komplex" , den sie als für die Prostaglandinsynthese verantwortlich ansehen.
Die Erforschung der Rolle der Eihäute bei der Induktion der Wehentätigkeit nahm in den letzten Jahren breiten Raum ein. Die Bedeutung der Fetalen Membranen resultiert daraus, daß sie Enzyme sowohl für die Synthese von Progesteron aus Pregnandiol (GIBB et al. (1980)) als auch zum Abbau von Progesteron (MILEWICH et al. (1977[1]), DIAZ-ZAGOYA et al. (1979), LAATIKAINEN et al. (1981)) besitzen. Auch die engen topographischen Beziehungen zu Plazenta, Decidua parietalis und Fruchtwasser, wie sie bei der Prostaglandinsynthese von Bedeutung sind, lassen eine Beteiligung der Eihäute am komplexen Vorgang des Weheneintritts vermuten.

1.4. Bedeutung des Progesteronstoffwechsels bei der Geburtsauslösung

Mit dem Ziel, nach einer relativ plötzlichen Änderung von biochemischen Parametern kurz vor Einsetzen der Wehentätigkeit zu suchen, wurde in zahlreichen Einzeluntersuchungen der letzten Jahre besonders intensiv der Stoffwechsel des Progesterons in der Plazenta und den Eihäuten qualitativ, quantitativ und in seiner räumlichen Anordnung analysiert. Die große Beachtung, die die Biosynthese und der Katabolismus von Progesteron fanden, erklärt sich aus der Tatsache, daß mit dem Progesteronabfall im Blut zahlreicher Säugetierspezies der für diese Arten entscheidende Faktor der

Geburtsauslösung entdeckt wurde. Die Evolutionstheorie legt nahe, daß beim Menschen ein im Vergleich zu diesen biologisch verwandten Arten ähnlicher Mechanismus existiert.

1.4.1. Progesteronsynthese

Die In-vitro-Experimente von GIBB et al. (1980) zeigten, daß Amnion und Chorion nach Wehentätigkeit eine höhere Umwandlungsrate von Pregnenolon zu Progesteron haben, als wenn dieselben Gewebe nach primärer Sectio caesarea, d.h. ohne daß Wehen vorausgegangen waren, gewonnen wurden.

1.4.2. Progesteronabbau

Noch weit intensiver wurde der Abbau des Progesterons in Plazenta und Fetalen Membranen erforscht. Es liegen zahlreiche Resultate von Hormonkonzentrations- und Enzymaktivitätsmessungen vor:

1.4.2.1. Gewebekonzentrationen

MILEWICH et al. (1977[1]) identifizierten die in den Fetalen Membranen vorkommenden Progesteronmetaboliten. Die wichtigsten sind das 20α-Hydroxy-4-pregnen-3-on (20α-DHP), das 5α-Pregnan-3,20-dion (5α-DHP) sowie das 3β-Hydroxy-5α-pregnan-20-on. Letzteres entsteht aus 5α-DHP.
Bestimmungen des Progesterons führten durch: PULKKINEN et al. (1972) in den Fetalen Membranen, MILEWICH et al. (1978) zusätzlich in der Plazenta und FERRE et al. (1978) in der Plazenta und in verschiedenen Regionen des Myometriums.
Über gleichzeitige Ermittlungen von Progesteron- und 20α-DHP-Spiegeln in denselben Gewebeproben aus Plazenta bzw. Eihäuten berichten RUNNEBAUM et al. (1975[2]), MILEWICH et al. (1977[1]) und LAATIKAINEN et al. (1981). Die erheblich divergierenden Meßwerte finden ihre Erklärung zum größten Teil in Unterschieden der Labormethoden. Zudem zeigen die Studien von PULKKINEN et al. (1972) und Ferre et al. (1978), daß wegen der Asymmetrie der Hormonkonzentrationen eine

Vergleichbarkeit der Ergebnisse nur dann gesichert ist, wenn die Entnahmeorte exakt definiert sind.
Insgesamt liefern die erwähnten Arbeiten keinen eindeutigen Hinweis auf eine Funktion der untersuchten Steroide bei der Steuerung der Uterusaktivität.

1.4.2.2. Enzymaktivitäten

Das Aktivitätsmuster der Enzyme des Progesteronkatabolismus wurde durch In-vitro-Messungen - mit ^{3}H-Progesteron als Substrat - von einer Autorengruppe um MILEWICH eingehend untersucht: Bei der Umwandlungsrate von Progesteron zu 20α-DHP durch die 20α-Hydroxysteroid-Oxydoreduktase stellten sie in Amnion und Chorion einen Abfall von der Früh- zur Spätschwangerschaft hin fest (1977[1], 1977[2], 1979), während das Enzym in der Plazenta gerade am Graviditätsende verstärkte Aktivität zeigte (1978).
Die Metabolisation von Progesteron durch die Cholesteron-5α-Reduktase (EC 1.3.1.22) zu 5α-DHP blieb in der Plazenta im Verlauf der Schwangerschaft unverändert (MILEWICH et al. (1978)), lag aber in den Eihäuten zwischen der 33. Schwangerschaftswoche und dem Geburtstermin auf einem signifikant niedrigerem Niveau als zwischen der 14. und 20. Schwangerschaftswoche (MILEWICH et al. (1977[2])).
Eine 3β-Hydroxysteroid-Oxydoreduktase, die 5α-DHP weiter zu 3β-Hydroxy-5α-pregnan-20-on umsetzt, wurde von MILEWICH et al. (1977[1]) in den Fetalen Membranen nachgewiesen.
Beim Vergleich von Fällen vaginaler Entbindungen und Sectio-caesarea-Fällen fanden MILEWICH et al. (1977[2]) bei gleicher Gestationsdauer keine unterschiedliche Metabolisationsrate von Progesteron zu seinen Derivaten in den Fetalen Membranen. In der Plazenta wurde aber die Aktivität der 20α-Hydroxysteroid-Oxydoreduktase nach Wehentätigkeit erheblich höher vorgefunden (DIAZ-ZAGOYA et al. (1979)).

1.4.3. Räumliche Verteilung des Progesteron

PULKKINEN et al. (1972) entdeckten eine endokrinologische Asymmetrie der Fetalen Membranen. Die Progesteronkonzentration in den Eihäuten sinkt mit zunehmendem Abstand von der Plazenta. Daraus leiten die Autoren die Ansicht ab, daß Amnion und Chorion, wie es CSAPO (1963) schon postuliert hatte, als lipidreiche Gewebe eine Funktion beim Transport des lipophilen Progesterons von der Plazenta zum Myometrium erfüllen könnten.
FERRE et al. (1978) errechneten im Vergleich zur Frühgravidität am Schwangerschaftsende ein zuungunsten des Progesteron verschobenes Verhältnis von Östradiol zu Progesteron im Myometrium. Ein Hindernis für die Diffusion des Progesteron aus der Plazenta in die Uterusmuskulatur wurde von diesen Autoren als Ursache angenommen.

1.4.4. Progesteronbindendes Protein

SCHWARZ et al. (1976) konnten in Amnion und Chorion laeve ein erst ab der 38. Schwangerschaftswoche in rasch ansteigender Menge auftretendes Protein nachweisen, das Progesteron und 5α-DHP binden kann. Die Substanz könnte entweder einen lokalen Progesteron- oder 5α-DHP-Entzug bewirken oder zusammen mit einem dieser Steroide als Hormon-Protein-Komplex eine eigene Aktivität entfalten.

1.4.5. Progesteronrezeptoren

Während 5α-DHP in anderen Geweben Progesteron kompetitiv von seinem Rezeptor verdrängt und dabei selbst progesteronähnliche Wirkungen auslösen kann, wird es nach CLARK und PECK (1976) im Uterus nicht an den Progesteronrezeptor gebunden.
So wäre es denkbar, daß durch rasche Umwandlung von Progesteron zu 5α-DHP im Uterus ein plötzliches Nachlassen progesteronvermittelter schwangerschaftserhaltender Effekte am Uterus eintreten kann.

Untersuchungen über Progesteronrezeptoren in Plazenta und Fetalen Membranen liegen noch nicht vor.

1.5. Einführung in die vorliegende Untersuchung

Im Rahmen der Suche nach biochemischen Parametern, die an der Steuerung der Geburtswehen beteiligt sein könnten, befaßt sich die vorliegende Studie mit dem 5α-Pregnan-3,20-dion (5α-DHP) als wichtigem Metaboliten des Progesterons. Da Änderungen des Progesteron-Metabolismus sich in Blut und Harn der Gravidae nur unzuverlässig widerspiegeln, sollten hier die Konzentrationen von 5α-DHP in Plazenta, Amnion und Chorion bestimmt werden. Die Plazenta ist ab dem zweiten Trimenon wichtigster Produktionsort von Progesteron, während die Fetalen Membranen beim Umsatz von Progesteron eine bedeutende Stellung innehaben.
Sowohl in der Plazenta als auch in den Eihäuten wurde bereits die Bildungsrate (angegeben in pmol Metabolit pro mg Protein pro Zeiteinheit) von 5α-DHP aus Progesteron ermittelt (MILEWICH et al. (1977[1], 1977[2], 1978, 1979)). Über den Absolutbetrag der Hormonmenge finden sich in der Literatur aber keine Angaben.
Um die Hormonkonzentrationen radioimmunologisch messen zu können, mußten die frisch gewonnenen Gewebe so vorbereitet werden, daß eine möglichst vollständige Erfassung, besonders auch des intrazellulären Hormones, erreicht werden konnte. Es wurde dabei ein von MILEWICH et al. (1977[2], 1978), LAATIKAINEN et al. (1981), RUNNEBAUM et al. (1975[1]) und DIAZ-ZAGOYA et al. (1979) abweichendes Verfahren gewählt.
Der zur Hormonbestimmung entwickelte Radioimmunassay stellt eine Überarbeitung des von MILEWICH et al. (1975) angegebenen Vorgehens dar und folgt in weiten Teilen der Modifizierung dieser Methode durch TANNICH (1983).
Das untersuchte Kollektiv umfaßt 72 Fälle und ist damit in Relation zu bisher veröffentlichten Arbeiten mit verwandter Thematik groß.

Es wurden auch solche Fälle in die Studie aufgenommen, die im klinischen Sinne eine Abweichung vom physiologischen Ablauf von Schwangerschaft und Geburt darstellen. Diese Spezialkollektive lassen sich zum Teil aufgrund des zu geringen Stichprobenumfanges nicht für eine statistische Aussage verwerten. Ihre Einbeziehung erlaubt dennoch eine orientierende Suche nach eventuellen Tendenzen, die die weitere Forschung nach Korrelationen zwischen biochemischen Parametern und klinischen Befunden in eine bestimmte Richtung lenken könnten.

Bei der Auswertung der Ergebnisse wurde eine große Zahl von geburtshilflich relevanten Daten jedes Einzelfalls berücksichtigt. Diese wurden den Ergebnissen der Hormonmessungen gegenübergestellt, um nach Korrelationen zu suchen.

2. PROBLEMSTELLUNG

Die vorliegende Untersuchung und deren Auswertung wurde von drei Hauptfragestellungen geleitet:

1. Welche 5α-DHP- und Proteinkonzentrationen bestehen in Amnion, Chorion und Plazenta in den Einzelfällen und im Durchschnitt des bearbeiteten Untersuchungsgutes und sind die beiden Konzentrationen korreliert?
2. Liefert der Vergleich der 5α-DHP-Messwerte mit den Daten der parallel durchgeführten Progesteron-Messung (KIEFER, in Vorbereitung) eine konstante Verhältniszahl 5α-DHP : Progesteron und existiert eine Korrelation zwischen den beiden Steroiden?
3. Lassen sich zwischen dem 5α-DHP-Spiegel, dem Quotienten 5α-DHP : Progesteron oder dem Quotienten 5α-DHP : Protein in Plazenta und Eihäuten einerseits und bestimmten klinischen oder anamnestischen Konstellationen andererseits Korrelationen erkennen?

3. MATERIAL

3.1. Probandenkollektiv

Die hier vorgelegte Studie umfaßt 72 Fälle, die im Kreißsaal der Universitätsfrauenklinik Tübingen im Februar und März 1982 geburtshilflich betreut wurden.
Die im Untersuchungszeitraum auftretenden Fälle wurden in ihrer chronologischen Reihenfolge in die Studie aufgenommen. Eine Auswahl nach klinischen oder anderen Aspekten erfolgte nicht.
Bei der statistischen Analyse der Untersuchungsergebnisse wurde der Fall Nr. 53, eine Drillingsgeburt, ausgeklammert. Dieser Fall wurde gesondert beschrieben und ausgewertet (s. 5.7.).

3.2. Apparate, Gefäße und Hilfsmaterial

Magnetrührer MR II, Fa. Heidolph
Kleenex-Tücher zweilagig, Fa. Kimberly & Clark
Kunststoff-Probengefäß, Fa. Sarstedt Nr. 731056
Teflon-Schüttelbehälter (5 ml), Fa. Braun-Melsungen Nr. 854475/1
Wolfram-Carbid-Kugel, Fa. Braun-Melsungen Nr. 854720/3
Mikrodismembrator II, Fa. Braun-Melsungen Nr. 853162
Präzisionswaage, Fa. Sartorius Nr. 1205 CMP 3
Polypropylen-Zentrifugenspitzröhrchen 105 x 16,8 mm mit Eindrückstopfen, Fa. Zinsser 57464
Multi-Tube Vortexer, Fa. cenco instrumenten, Niederlande Nr. 34524-200
Einmal-Glasteströhrchen 75 x 12 mm, Fa. AHS-Deutschland Merz und Dade, Nr. 451300
Szintillationszähler Isocap 300, Fa. Nuclear, Chicago
Polyäthylen-Zählgefäß, Fa. Zinsser Nr. 3071401
Glas-Chromatographiesäulen, Fa. Panchen, Kleinwaldstadt
Polypropylen-Filter: filter-discs, Fa. Isolab, Ohio
Glasstab, 4 mm Durchmesser
Kühlzentrifuge 5012, Fa. Heraeus Christ

Eppendorf-Hütchen, Fa. Eppendorf-Gerätebau
Eppendorf-Pipetten und Pipettenspitzen verschiedener Größe, Fa. Eppendorf-Gerätebau
Abdeckfilm: Parafilm, American Can Company, Greenwich
Tischrechner mit Plotter HP 9835 A, Fa. Hewlett Packard
Spektralphotometer PM2K, Fa. Carl Zeiss
Rechenanlage 4341, Fa. IBM

3.3. Chemikalien

Radioaktives 5α-DHP: 5α-Dihydroprogesterone [1,2-^{3}H(N)] 55,7 Ci/mmol, Net 438, Lot-Nr. 998-216, New England Nuclear, Boston
Kristallines Hormon für RIA-Standards: 5α-Pregnan-3,20-dion, Fa. Steraloids, Pawling, New York Nr. P 2750
Natriumchlorid kristallin p.a., Fa. Merck Nr. 6404
Flüssiger Stickstoff, Fa. Messer-Griesheim
Äthanol p.a. absolut, Fa. Merck Nr. 972
Diäthyläther p.a., Fa. Merck Nr. 921
Stickstoffgas, Fa. Messer-Griesheim
Isooctan purum, Fa. Fluka
Szintillationsflüssigkeit Unisolve 1, Fa. Koch-Light Laboratories, England, Nr. 1992700
Säulenmaterial: Chromatolithe B Celite-Propylenglykol, Fa. bio-Mérieux, Lyon
Radioaktives Progesteron: Progesterone [1,2-^{3}H] 57,0 Ci/mmol Net 208, Lot-Nr. 1191-084, New England Nuclear, Boston
Complete Freud's Adjuvant, Difco Laboratories, Detroit
Aktivkohle Norit A, Fa. Serva Nr. 30890
Folin-Ciocalteus-Phenolreagens, Fa. Merck Nr. 9001
Human-Serumalbumin: 10 g gelöst in 100 ml physiologischer Kochsalzlösung, Fa. Kabi Lot-Nr. 80729

3.4. Lösungen

5α-DHP-Tracer-Stammlösung in Isooctan, 0,12 mmol/l,
ca. 60 000 CPM/10 µl
5α-DHP-Recovery-Tracer in Äthanol, 0,72 µmol/l,
ca. 1800 CPM/50 µl
5α-DHP-Radioimmunassay-Tracer in Gelatinepuffer, 1,6 µmol/l
ca. 8000 CPM/100 µl
Progesteron-Recovery-Tracer in Äthanol, 0,7 µmol/l,
ca. 1800 CPM/50 µl

Urpuffer (pH = 7,5):
2,28 g K_2HPO_4 (Fa. Merck Nr. 5099)
1,36 g KH_2PO_4 (Fa. Merck Nr. 4878)
606,7 mg K_2EDTA (Fa. Fluka Nr. 03660)
195,03 mg NaN_3 (Fa. Merck Nr. 6688)
in 1 Liter aqua dest. gelöst.

Lösung A für Proteinbestimmung:
98 ml 2 % Na_2CO_3 (Fa. Merck Nr 6392) in 0,1 M NaOH
Fa. Merck Nr. 9141) gelöst
1 ml 2 % Na/K-Tartrat (Fa. Merck Nr. 8087) in Urpuffer
gelöst
1 ml 1 % $CuSO_4$ (Fa. Merck Nr. 2790) in Urpuffer gelöst

vor Gebrauch frisch hergestellt und gemischt.

Lösung B für Proteinbestimmung:
Folin-Ciocalteus-Reagens (Fa. Merck Nr. 9001), vor Gebrauch
mit aqua dest. 1:10 verdünnt.

Standardlösungen für Proteinbestimmung:
Durch Verdünnung der Proteinstandardlösung (Fa. Kabi) mit
aqua dest. Standardlösungen mit 208, 104, 52, 26,
13, 6,5 , 3,25 und 1,625 µg Protein/ml hergestellt.

Aktivkohlesuspension:

1,25 g Norit A (Fa. Serva Nr. 30890)
0,125 g Dextran T 70 (Fa. Pharmacia Fine Chemicals, Uppsala, Nr. 1730)
mit 500 ml 0,1 % Gelatinepuffer aufgefüllt und 4 Stunden bei 4°C gerührt. Kohlesuspension bei 4°C aufbewahrt und unmittelbar vor Gebrauch nochmals 10 min gerührt.

0,1 % Gelatinepuffer:

1 g Gelatine (reinst, Fa. Serva Nr. 22151)
1 mg Thiomersal (Fa. Serva Nr. 11375)
6,6 ml Stocklösung A
66,7 ml Stocklösung B
133,3 ml Stocklösung C
mit destilliertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und Gelatine bei 30°C im Wasserbad gelöst,
bei 4°C aufbewahrt

Stocklösung A:
68,99 g $NaH_2PO_4 \cdot H_2O$ (reinst, Fa. Merck Nr. 6346)
1 mg Thiomersal (Fa. Serva Nr. 11375)
mit destilliertem Wasser auf 1 l aufgefüllt und langsam gelöst

Stocklösung B:
17,8 g $Na_2HPO_4 \cdot 2\ H_2O$ (reinst, Fa. Merck Nr. 6580)
1 mg Thiomersal (Fa. Serva Nr. 11375)
mit destilliertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und langsam gelöst

Stocklösung C:
61,36 g NaCl (p.a., Fa. Merck Nr. 6404)
1 mg Thiomersal (Fa. Merck Nr. 11375)
mit destilliertem Wasser auf 1 Liter aufgefüllt und langsam gelöst

Alle Stocklösungen wurden bei 4°C aufbewahrt.

4. Methoden

4.1. Aufbereitung des Gewebes

4.1.1. Gewebepräparation

Die Plazenten wurden unmittelbar nach Geburt in reichlich, auf 4°C gekühlte physiologische Kochsalzlösung überführt. Auch die weitere Päparation erfolgte bei 4°C: Die Eihäute wurden stumpf voneinander getrennt. Bei der Gewinnung der Präparate der Fetalen Membranen wurde aus Gründen der Vereinheitlichung jeweils ein Abstand von 2 cm zur Basalplatte der Plazenta eingehalten. Aus demselben Sektor, aus dem die Proben der Eihäute stammten, wurde auch ein Präparat der pars uterina placentae, im weiteren verkürzend Plazenta genannt, entnommen.
Die Proben von ca. 5 g Gewicht wurden einzeln mit 50 ml physiologischer NaCl-Lösung von 4°C gespült. Die Spüllösung wurde dabei mit Hilfe eines Magnetrührers mit 600 U/min bewegt. Unter Erneuerung der Spülflüssigkeit wurde der Spülvorgang von je 30 Sekunden Dauer drei- bis viermal wiederholt, so daß beim letzten Spülgang die Flüssigkeit nahezu klar blieb.
Die Gewebestücke wurden mit nichtfasernden Einmal-Papiertüchern vorsichtig getrocknet. Nach kurzem Schockgefrieren in flüssigem Stickstoff wurden die Gewebe in Kunststoffprobengefäßen bei -10°C konserviert.

4.1.2. Homogenisierung des Gewebes

Ca. 1 g Gewebe wurde im gefrorenen Zustand rasch zerkleinert und in einen Teflon-Schüttelbehälter mit Wolfram-Carbid-Kugel überführt.
Auf eine fünfminütige Kühlung in flüssigem Stickstoff folgte sofort der erste einminütige Homogenisierungsschritt im Mikrodismembrator nach der Sprödbruchtechnik. Die Schüttelamplitude wurde auf 15 mm eingeregelt. Nach erneuter Kühlung von 1 min Dauer in flüssigem Stickstoff wurden die Plazentaproben noch einmal, die Amnion- und Chorionproben noch zweimal jeweils 1 min lang im Mikro-

dismembrator pulverisiert und anschließend gekühlt. Um eine gleichmäßige Pulverisierung des Gewebes zu erreichen, wurde nach jedem Arbeitsschritt die Teflonhülse kräftig auf eine feste Unterlage aufgestoßen, so daß sich das Gewebe von der Innenwand des Behälters löste.
Das Gewebepulver wurde sofort mittels eines gekühlten Spatels in ein gekühltes und auf der Präzisionswaage gewogenes Polypropylen-Zentrifugenröhrchen überführt. Das Gewicht der Probe wurde bestimmt, das Röhrchen mit einem Eindrückstopfen verschlossen und bei -10°C bis zur Weiterverarbeitung gelagert.

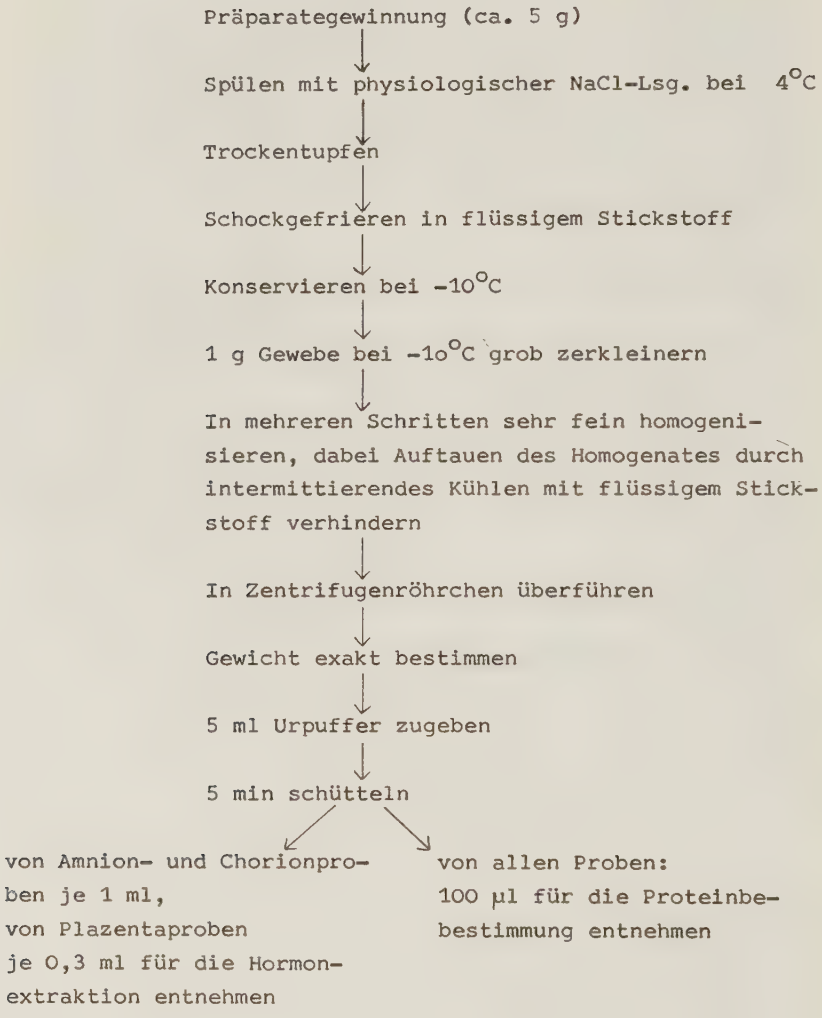
4.1.3. Herstellung eines flüssigen Homogenates

Durch Zugabe von 5 ml Urpuffer wurde ein flüssiges Homogenat hergestellt, das auf dem Multi-Tube Vortexer 5 min geschüttelt wurde.
Für die Hormonextraktion (s. 4.2.3.) wurde aus den Amnion- und Chorionhomogenaten je 1 ml, aus den Plazentahomogenaten je 0,3 ml in Polypropylen-Zentrifugenröhrchen abpipettiert.
Zur Feststellung des Proteingehaltes (s. 4.3.) wurde von jeder Probe eine 100 µl-Fraktion entnommen.

4.1.4. Zusammenfassung

Abb. 1 gibt eine Übersicht der Arbeitsschritte bei der Aufbereitung des Gewebes.

Abb. 1: Fließdiagramm der Gewebeaufbereitung



4.2. Bestimmung des 5α- DHP

4.2.1. Festlegung des Extraktionvolumens

Die Standardkurve des Radioimmunassay (s. Abb. 5, S. 45) besitzt im mittleren Bereich ihre größte Genauigkeit. Um dort messen zu können, wurde in Vorversuchen mit 10 Proben zunächst ermittelt, auf welchem Niveau die Hormonkonzentrationen des Untersuchungsgutes liegen würden. Die ermittelten Konzentrationen lagen für Amnion bei 40, für Chorion bei 60 und für Plazenta bei 250 ng/g Gewebe.
Unter Berücksichtigung der etwa zu erwartenden Wiederfindung (s. 4.2.5.) wurde dann festgelegt, das Pulver aller drei Gewebearten jeweils in 5 ml Urpuffer zu suspendieren (s. 4.1.3.).
Während vom Amnion- und Chorionhomogenat eine Fraktion von 1 ml für die Extraktion (s. 4.2.3.) abpipettiert wurde, betrug diese Fraktion im Falle des Plazentahomogenates nur 0,3 ml .
Nach Extraktion und Säulenchromatographie wurde nochmals ein für Amnion und Chorion einerseits und Plazenta andererseits unterschiedliches Vorgehen gewählt: Nach Abdampfen des Isooctans im Eluat (s. 4.2.4.4.) wurde das isolierte 5 α - DHP aus Amnion und Chorion in jeweils 300 µl Äthanol aufgenommen, das 5 α - DHP aus Plazentagewebe aber in 500 µl Äthanol.
So ergab sich insgesamt für die Berechnung der endogenen Hormonkonzentration aus den im Radioimmunassay bestimmten Hormonkonzentrationen bei Amnion und Chorion ein Multiplikationsfaktor von 150, während dieser Faktor bei den Plazentaproben 830 betrug.

4.2.2. Recovery-Tracer

4.2.2.1. Reinigung des Ur-Tracers

Um eine Verunreinigung des für die Berechnung der Wiederfindungswerte (s. 4.2.2.3. und 4.2.5.) und Radioimmunassay (s. 4.2.7.2.) eingesetzten 5 α - DHP - Tracers mit anderen radioaktiven Substanzen auszuschließen, wurde der in Äthanol gelöste Tracer gereinigt.

Aus 2 ml des 5α - DHP - Tracers wurde im Wasserbad bei 37°C unter Stickstoffbegasung das Äthanol abgedampft. Das am Rand des Glasteströhrchens verbliebene Tracermaterial wurde in 300 µl Isooctan aufgenommen. Diese Lösung wurde 2 min lang auf dem Multi-Tube Vortexer geschüttelt und dann auf Chromatographiesäulen übertragen. Die Säulen waren zuvor wie unter 4.2.5.1. beschrieben vorbereitet worden. Mit je 300 µl Isooctan wurde das Glasteströhrchen zweimal nachgespült und die Spüllösung ebenfalls auf die Säule übertragen. Die folgenden 600 µl wurden direkt in die Säule pipettiert. Das bis dahin erhaltene Eluat von je 1,5 ml wurde verworfen (s. 4.2.4.2.). Es wurde dann 1 ml Isooctan auf die Säule gegeben und deren Eluat als gereinigtes 5α-DHP-Tracermaterial aufgefangen.
10 µl Tracer wurden in einem Zählgefäß mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit versetzt. Die Aktivität wurde im Szintillationzähler gemessen.
Der gereinigte 5α-DHP-Tracer wurde als Stammlösung zur Herstellung sowohl des Recovery-Tracers (s. 4.2.2.2.) als auch des RIA-Tracers (s. 4.2.7.2.) verwandt.

4.2.2.2. Herstellung eines Recovery-Tracers

Isooctan, das Lösungsmittel der gereinigten Tracer-Stammlösung (s. 4.2.2.1.) wurde bei 37°C unter Begasung mit Stickstoff abgedampft.
Der im Glas zurückgebliebene Tracer wurde mit soviel Äthanol aufgenommen, daß sich eine Aktivität des Recovery-Tracers von etwa 1800 CPM/50 µl ergab.

4.2.2.3. Zugabe von Recovery-Tracer zum Homogenat

Dem Homogenat (Amnion- und Chorionproben je 1 ml, Plazentaproben je 0,3 ml) im Zentrifugenröhrchen wurden je 50 µl 5α-DHP-Recovery-Tracer zugesetzt, um so die spätere Berechnung der Hormonverluste im Verlauf der Extraktion zu ermöglichen.
Ebenfalls je 50 µl 5α-DHP-Recovery-Tracer wurde in 3 mit je 10 ml Szintillationsflüssigkeit gefüllte Zählgefäße

gegeben, um die Ausgangsaktivität des Recovery-Tracers zu ermitteln. Die Ausgangsaktivität diente als Vergleichswert bei der späteren Berechnung der individuellen Wiederfindung (s. 4.2.5.).
Die Radioaktivitätslöschung (Quench-Effekt) durch das Äthanol, das nach der säulenchromatographischen Trennung das Lösungsmittel des Hormones darstellt, wurde dabei nachgeahmt, indem der Zählflüssigkeit für den Vergleich mit Amnion- und Chorionextrakten 50 µl und für den Vergleich mit Plazentaextrakten 150 µl Äthanol zugesetzt wurde.

4.2.3. Hormonextraktion

Nach Zugabe des Recovery-Tracers zum Homogenat wurden die Proben 5 min lang geschüttelt. Es folgte eine 15minütige Inkubation.
Danach wurden alle Proben mit 4 ml Äther versetzt. Erneut wurde auf dem Multi-Tube Vortexer geschüttelt: Zweimal im Abstand von 3 min, jeweils 2 min lang.
Im Anschluß wurde bei 4°C und 4000 U/min 10 min lang zentrifugiert.
Um die **Trennung** der organischen von der am Boden befindlichen wässrigen Phase zu fixieren, wurde letztere im Äthanolbad bei -10°C 2 min lang eingefroren. Danach ließ sich der noch flüssige organische Überstand leicht in Glasteströhrchen abkippen, während die wässrige Phase verworfen wurde.
Der im organischen Anteil enthaltene Äther wurde unter Stickstoffbegasung abgedampft und die verbliebene Trockensubstanz in 200 µl Isooctan aufgenommen.

4.2.4. Säulenchromatographische Trennung

4.2.4.1. Vorbereitung der Säulen

Aufgrund der Kreuzreaktion des im Radioimmunassay verwendeten Antiserums (s. 4.2.7.3.3. und 4.2.7.6.) mußte eine chromatographische Trennung von Progesteron und 5α-DHP vorgenommen werden.

Dafür standen Säulen von 18,4 cm Höhe bei einem Innendurchmesser von 0,45 cm zur Verfügung. In den Auslauf der Säulen wurden Polypropylen-Filterscheiben eingepaßt.
Das Füllen mit dem Säulenmaterial erfolgte nach Herstellervorschrift, modifiziert nach ZWIRNER (mündliche Mitteilung): An den Säulen wurden zunächst Markierungen in 3,5 cm, 5,4 cm, 7,3 cm und 9,2 cm Höhe, jeweils vom Filterboden aus gemessen, angebracht. Mit der Säule wurde ohne Druckausübung soviel Chromatolithe B aus dem Vorratsgefäß aufgenommen, daß das Material bis zur 2. Markierung reichte. Sodann wurde das Säulenmaterial mit einem Glasstab bis zur 1. Markierung zusammengepreßt.
Zwei weitere Male wurde Chromatolithe B locker jeweils bis zur übernächsten Markierung eingefüllt und wiederum um einen Markierungsstrich zusammengedrückt, so daß die Säulen schließlich bis zu einer Höhe von 7,3 cm Chromatolithe enthielten.
Unmittelbar vor Gebrauch wurden die so präparierten Säulen mit je 15 ml Isooctan äquilibriert.

4.2.4.2. Festlegung der Elutionsfraktionen

Um Aufschluß darüber zu erhalten, in welcher Elutionsfraktion nach Passage der Chromatographiesäule 5α-DHP bzw. Progesteron erscheinen, mußten Vorversuche durchgeführt werden:
In Isooctan gelöstes, ^{3}H-markiertes Hormon mit bekannter Aktivität wurde auf die Säule gegeben. In Schritten von jeweils 0,5 ml wurde mit Isooctan eluiert. Die Portionen wurden einzeln aufgefangen und die enthaltene Radioaktivität im Szintillationszähler bestimmt.
Anhand der Ergebnisse dieser Tests (s. 5.1.1.) wurden die Elutionsfraktionen so gewählt, daß das 5α-DHP vom Progesteron isoliert werden konnte: Die ersten 1,5 ml Eluat wurden verworfen, da sie nur sehr geringe Mengen Hormon enthielten. Als 5α-DHP-Fraktion wurde der nächste Milliliter definiert, während die folgenden Elutionsfraktionen außer 5α-DHP auch Progesteron enthielten und deshalb verworfen werden mußten.

4.2.4.3. Trennung der extrahierten Steroide

Aus den Elutionstests (s. 4.2.4.2.) ergab sich für die säulenchromatographische Abtrennung von 5α-DHP aus dem Gewebeextrakt folgendes Vorgehen:
Die 200 µl Isooctanlösung, in die der Steroidextrakt aufgenommen worden war (s. 4.2.3.), wurden auf die vorbereitete Säule übertragen. Durch zweimaliges Nachspülen des Glasteströhrchens mit je 200 µl Isooctan und anschließenden Transfer auf die Säule wurde eine möglichst vollständige Überführung des Hormons auf die Chromatographiesäule angestrebt. Nach Passage von weiteren, direkt auf die Säule pipettierten 900 µl Isooctan betrug das Eluat insgesamt 1,5 ml. Diese erste Fraktion wurde verworfen.
Das 1 ml umfassende 5α-DHP-Eluat konnte nun aus dem Auslauf der Säule in einem Glasteströhrchen aufgefangen werden, nachdem diese mit 1 ml Isooctan beschickt worden war.

4.2.4.4. Aufnahme des 5α-DHP in Äthanol

Das Isooctan im Eluat wurde zunächst bei 37°C unter Begasung mit Stickstoff abgedampft.
Zur Ablösung des lipophilen Steroids vom Rand des Glasteströhrchens wurde den Amnion- und Chorionproben je 300 µl, den Plazentaproben je 500 µl Äthanol zugesetzt und anschließend auf dem Multi-Tube Vortexer 5 min geschüttelt.
Vorversuche wiesen übrigens nach, daß die hierdurch in den Radioimmunassay eingebrachte Menge an Äthanol das Ergebnis nicht beeinflußt.

4.2.5. Bestimmung der individuellen Wiederfindung

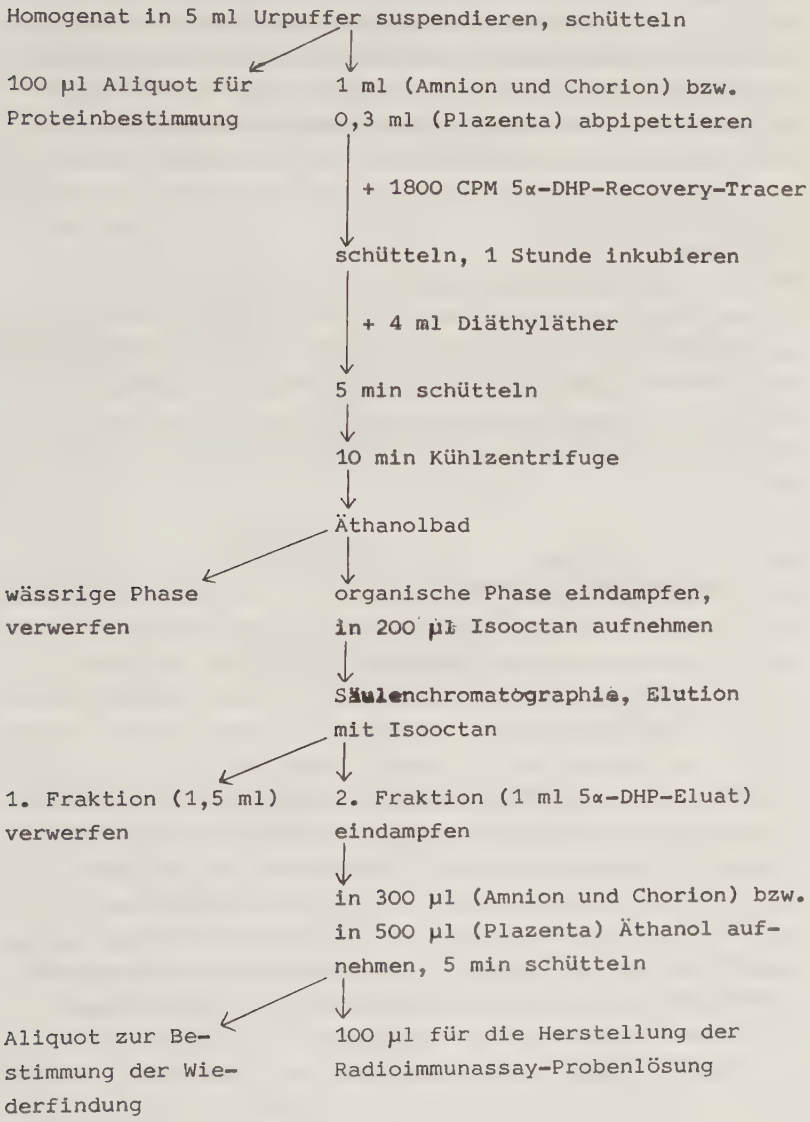
Während der Hormonextraktion entstehen Verluste an Hormon. Um deren Ausmaß feststellen zu können, war den Proben vor der Extraktion radioaktiv markiertes, in Äthanol gelöstes 5α-DHP als Recovery-Tracer zugesetzt worden. Dabei wurde die Aktivitätsmenge - ca. 1800 CPM pro Probe - so gewählt, daß einerseits eine exakte Messung der Wiederfindung möglich und andererseits eine Beeinflussung des sich anschließenden Radioimmunassay ausgeschlossen war.

Nach der Extraktion (s. 4.2.3.), säulenchromatographischen Isolierung (s. 4.2.4.3.) und Aufnahme von 5α-DHP in Äthanol (s. 4.2.4.4.) wurden jetzt 100 µl von den Hormonextrakten der Eihäute bzw. 200 µl von den Plazenta-Hormonextrakten in ein mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit gefülltes Zählgefäß überführt. Die Radioaktivität wurde im Szintillationszähler bei einer Zähldauer von 10 min bestimmt. Durch Vergleich mit der eingesetzten Aktivität - unter Berücksichtigung der Verdünnungsfaktoren - konnte für jede Probe der Anteil der Wiederfindung berechnet werden.

4.2.6. Zusammenfassung der Extraktion, Säulenchromatographie, Äthanolaufnahme und Wiederfindungsbestimmung

Eine Übersicht über die in 4.2.2.3. bis 4.2.5. beschriebenen Arbeitsschritte gibt die Abb. 2.

Abb. 2: Fließdiagramm der Extraktion, Säulenchromatographie, Aufnahme in Äthanol und Wiederfindungsbestimmung



4.2.7. Radioimmunassay

4.2.7.1. Standardlösungen

Das kristalline Hormon wurde in Äthanol eingewogen. Ausgehend von einer Stammlösung mit einer Konzentration von 1 µg 5α-DHP/100 µl wurde durch weitere Zugabe von Äthanol eine Verdünnungsreihe mit Endkonzentrationen von 500, 250, 100, 50 bzw. 20 µg 5α-DHP/100 µl hergestellt. Mit Hilfe dieser sechs Standardlösungen konnte eine Eichkurve für den Radioimmunassay erstellt werden (s. 4.2.8.).

4.2.7.2. RIA-Tracer

Für den Radioimmunassay wurde ein in Gelatinepuffer gelöster Tracer benötigt. Deshalb wurde aus einer Fraktion der Stammlösung des gereinigten 5α-DHP-Tracers (s. 4.2.2.1.) das Isooctan unter Begasung mit Stickstoff abgedampft. Der Rückstand wurde in Gelatinepuffer gelöst und verdünnt, bis die Radioaktivität auf ca. 8000 CPM/100 µl reduziert war.

4.2.7.3. Antiserum

4.2.7.3.1.Herstellung

Ein ca. 12 Wochen altes weißes Neuseeland-Kaninchen wurde zur Antikörperproduktion angeregt.
6α-Carboxyäthylmercaptoprogesteron als Hapten wurde mit Complete Freund's Adjuvant versetzt und dabei auf eine Antigenkonzentration von 0,5 mg/ml eingestellt.
2 ml dieser Antigenlösung wurden dem Kaninchen Nr. 110 subcutan an fünf verschiedenen Stellen des Rückens und zusätzlich in einen Hinterlauf intramuskulär injiziert. In dreiwöchigen Abständen erfolgten Booster-Injektionen. Erstmalig nach zwei Monaten und dann in monatlichen Abständen wurde Blut aus einer Ohrvene entnommen. Das heparinisierte Blut wurde bei Raumtemperatur und 1200 g 10 min lang zentrifugiert.

4.2.7.3.2. Verdünnung

Das Antiserum wurde mit Gelatinepuffer 1:100 verdünnt und eine Stunde bei 4°C mit dem Magnetrührer gerührt. Anschliessend wurde es in Eppendorf-Hütchen proportioniert und bis zur Verarbeitung bei -20°C gelagert.
Die Ergebnisse der Vorversuche (s. 5.1.2.)zeigten, daß die Endverdünnung 1:600 betragen mußte, damit eine Nullbindung von ca. 40 % erreicht wurde. Deshalb wurde unmittelbar vor Durchführung des Radioimmunassay eine weitere Verdünnung mit Gelatinepuffer 1:6 vorgenommen und auf einem Schüttelrührer gemischt.

4.2.7.3.3. Kreuzreaktionen

Die Kreuzreaktionen des Antiserums P 110 mit 24 Steroidhormonen wurden nach LAUZON et al. (1975) ermittelt:

$$\text{Kreuzreaktion} = \frac{\%\ \text{Verdrängung durch 1 ng Steroid}}{\%\ \text{Verdrängung durch 1 ng 5}\alpha\text{-DHP}} \times 100\ \%$$

Die Ergebnisse zeigt Tab. 4, S. 43 .

4.2.7.4. Inkubationszeit

Die Abhängigkeit der Antikörper-Hormon-Bindung von der Inkubationszeit wurde in Vorexperimenten geprüft.
Die Ergebnisse zeigt Abb. 4, S. 44 .
Danach wurde eine Inkubationsdauer von zwei Stunden festgelegt.

4.2.7.5. Durchführung des Radioimmunassay

Die Durchführung der radioimmunologischen Bestimmung des 5α-DHP erfordert, daß dieses in einem geeigneten Puffersystem vorliegt.
Für den Radioimmunassay wurden deshalb pro Probe 100 µl des in Äthanol gelösten 5α-DHP (s.4.2.4.4.) in einem Glasteströhrchen in 900 µl Gelatinepuffer gelöst und auf dem Multi-Tube Vortexer 5 min geschüttelt.
Der Grad der Verdünnung wurde auch hier durch die Maßgabe determiniert, daß die später gemessene 5α-DHP-Konzentration möglichst im mittleren Bereich der RIA-Standardkurve lie-

gen sollten (s. 4.2.1.).
Für den RIA wurden jeweils 100µl der in Gelatinepuffer aufgelösten Hormonproben eingesetzt. Entsprechend wurden auch 100 µl RIA-Tracer (s. 4.2.7.2.) sowie 200 µl Antiserum (s. 4.2.7.3.2.) zugesetzt, so daß das Inkubationsvolumen insgesamt 400 µl umfaßte. Die Röhrchen wurden auf dem Multi-Tube Vortexer kurz geschüttelt.
Zur Unterbrechung der Bindungsreaktionen nach zweistündiger Inkubation wurde in rascher Folge bei $4^{\circ}C$ 1 ml Aktivkohlesuspension einpipettiert. Die Aktivkohlesuspension war unmittelbar zuvor bei $4^{\circ}C$ 15 min lang mit dem Magnetrührer gerührt worden. Nach Zugabe der Kohle wurde auf dem Multi-Tube Vortexer kurz gemischt und bei $4^{\circ}C$ 15 min lang inkubiert.
Anschließend wurde bei $4^{\circ}C$ und 4000 U/min 20 min zentrifugiert. Der Überstand enthielt die antikörpergebundenen Hormonmoleküle, während der ungebundene Hormonanteil an die Aktivkohle adsorbiert im Sediment vorlag.
Der Überstand wurde rasch in Zählgefäße mit 10 ml Szintillationsflüssigkeit abgekippt. Im Flüssigkeitsszintillationszähler wurde dann bei einer Zähldauer von 10 min die Radioaktivität bestimmt.
Das den Proben beigemischte radioaktive 5α-DHP steht mit dem endogenen 5α-DHP in Konkurrenz um die Antikörperbindungsstellen. Bei niedriger Hormonkonzentration im Gewebe kann ein relativ großer Anteil des radioaktiv markierten Hormons an die im Radioimmunassay nur begrenzt zur Verfügung gestellten Antikörper gebunden werden. Daher ergibt sich in diesem Fall eine verhältnismäßig hohe Zählrate bei der Flüssigkeitsszintillationszählung. Umgekehrtes gilt für hohe endogene 5α-DHP-Konzentrationen. Die Hormonkonzentration verhält sich also reziprok zur Zählrate.
Der Tab. 1, die einen Überblick über den Ablauf des Radioimmunassay gibt, sind auch die Zusammensetzungen der mit TC (= total counts), NS (= nicht-spezifische Bindung) bzw. BO (= Null-Bindung) gekennzeichneten Lösungen zu entnehmen.

Tab. 1: Radioimmunassay-Arbeitsschema

	Probenbezeichnung:				
	TC	NS	BO	Standard	Proben
Lösung (µl):					
Probe					100
Standard				100	
GP	300	300	100		
RIA-Tracer	100	100	100	100	100
Antiserum			200	200	200
	schütteln, 2 Stunden bei 4°C inkubieren,				
Aktivkohle-suspension		1000	1000	1000	1000
GP	1000				
	kurz schütteln, 15 min bei 4°C inkubieren, 20 min bei 4°C zentrifugieren, Überstand in rascher Folge in Szintillationsgefäße abgießen, 10 min im Szintillationszähler die Aktivität messen.				

Abkürzungen:

TC = total counts, d.h. Verdünnung des markierten Hormons

NS = unspezifische Bindung durch die Aktivkohle

BO = Antikörper-Nullbindung (nur markiertes Hormon)

GP = Gelatinepuffer

Bei den TC-Röhrchen wurde nur markiertes, aber kein unmarkiertes Hormon zugesetzt. Außerdem wurde beim Abstoppen der Inkubation keine Kohle, sondern eine entsprechende Menge an Gelatinepuffer, die lediglich dem Volumenausgleich diente, zugesetzt. Die Ergebnisse zeigen die Gesamtaktivität des auch in allen Standardlösungen und zu messenden Proben enthaltenen RIA-Tracers, nur vermindert durch verdünnungseffekte und Verluste beim Abkippen in die Zählgefäße.
Im Falle der NS-Röhrchen addieren sich zu diesen Radioaktivitätsverlusten noch die Auswirkungen der unspezifischen Bindungen des Tracers an die Aktivkohle.
Eine Analyse der Bindungsfähigkeit des verwendeten Antiserums erlauben die BO-Standards. Sie unterscheiden sich von den NS-Röhrchen nur durch den Zusatz von Antiserum. Unmarkiertes Hormon enthalten auch sie nicht, so daß sich der Grad der Bindung des Tracers an die Antikörper unter Ausschaltung seiner kompetitiven Verdrängung durch unmarkiertes Hormon erkennen läßt.

4.2.7.6. Qualitätskontrollen

Aufgrund der Kreuzreaktion des verwendeten Antiserums (s. 5.1.3.) wurde vor dem Radioimmunassay eine säulenchromatographische Trennung des Progesteron vom 5α-DHP notwendig (s. 4.2.4.).So konnte der Einfluß der ähnlichen relativen Bindungsaffinität beider Steroide zum Antikörper ausgeschaltet und damit die Spezifität der Methode gesichert werden.
Zur Kontrolle der Richtigkeit unseres Meßverfahrens wurden Standards bekannter Konzentration mitgemessen. Die Meßwerte wurden mit den erwarteten Werten verglichen. Die Regressionsgerade hatte eine durchschnittliche Steigung von $m = 1{,}008$. Ein systematischer Fehler der Methode lag demnach nicht vor.
Der Präzisionskontrolle unserer radioimmunologischen Bestimmung diente die Berechnung des Variationskoeffizienten. Der Intraassay-Variationskoeffizient betrug 7,6 % ($n = 6$), der Interassay-Variationskoeffizient 5,5 % ($n = 8$).

4.2.8. Berechnung der 5α-DHP-Konzentration

Die im Szintillationszähler ermittelte Aktivität der Proben wurde mit Hilfe eines Rechenprogrammes des Tischrechners HP 9835 A in Hormonkonzentrationen umgerechnet.
Aus den eingegebenen Daten der Standards des Radioimmunassay wurde unter Berücksichtigung der Verdünnungsfaktoren nach dem log spline-Modell eine Standardkurve erstellt und auf dem Plotter gezeichnet. Abb. 5, S. 45 zeigt die typische Standardkurve eines der von uns durchgeführten 5α-DHP-Radioimmunassays.
Der Tischcomputer bildete aus den Zählausbeuten der Doppelbestimmungen der unbekannten Proben einen Mittelwert und ermittelte anschließend anhand der Standardkurve durch Interpolation die zugehörigen Hormonkonzentrationen.
Ausgehend von der tatsächlich eingesetzten Gewebemenge der einzelnen Proben (s. 4.1.2.) wurde schließlich auf die auf 1 g Gewebe bezogene Hormonmenge rückgerechnet.

4.3. Proteinbestimmung

Die Bestimmung des Proteingehaltes in dem in Urpuffer aufgenommenen Gewebehomogenat (s.4.1.3.) erfolgte nach der Folin-Phenol-Methode von LOWRY (1951) mit Humanalbumin als Standard.
Die Standardlösungen und Reagenzien wurden nach Vorschrift frisch hergestellt. Von den Gewebehomogenatproben wurden Verdünnungen 1:21 und 1:41 vorbereitet. Das Arbeitsschema (Tab. 2) zeigt die Reihenfolge und Mengen der Zugabe der Lösungen zu Leerwert, Standards und Proben.
Alle Mischungen wurden jeweils dreifach für die anschließende Extinktionsmessung bei 750 nm bereitgestellt.
Nach der Formel:

$$x \text{ mg Protein/ml} = \frac{\text{Extinktion} + 12{,}74 \times \text{Verdünnung(21 bzw.41)}}{1946 \times 5}$$

wurden die Extinktionswerte in Proteinkonzentrationen umgerechnet.
Auch die fünffache Verdünnung des Gewebehomogenates mit Urpuffer (s. 4.1.3.) fand dabei Berücksichtigung.

Tab. 2: Arbeitsschema für die Proteinbestimmung

	Leerwert	Proben
0,1 ml Urpuffer + 2 ml aqua dest.	0,3 ml	
Gewebehomogenate 1:21 bzw. 1:41		0,3 ml
Lösung A	1,5 ml	1,5 ml
	schütteln, 10 min inkubieren lassen	
Lösung B	1,5 ml	1,5 ml
	schütteln, 1 h inkubieren lassen Extinktion messen bei 750 nm	

4.4. Datenerhebung / Erhebungsheft

Die klinischen Daten der untersuchten Fälle wurden zusammen mit den Ergebnissen der laborchemischen Bestimmungen in standardisierter Form aufgelistet. Die Seiten 35 bis 38 zeigen das zu diesem Zweck erstellte Erhebungsheft.

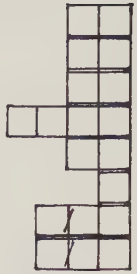
ERHEBUNGSHEFT

Wenn keine Angabe, dann Kästchen leer.
Beim Eintragen kürzerer Zahlen links mit Nullen auffüllen.

A	**Identifikation**	
A 1	Fall-Nr.	1-2
A 2	Lochkarten-Nr.	3
B	**Mütterliche Daten**	
B 1	Alter bei Entbindung in vollendeten Jahren	4-5
B 2	Wievielt-Para	6
B 3	Wievielt-Gravida	7
B 4	Frühere SS (falls keine, weiter bei B 5)	
B 4.1	Anzahl SS o.B. (keine = 0)	8
B 4.2	" Interruptiones (")	9
B 4.3	" Aborte (")	10
B 4.4	" Frühgeburten (")	11
B 5	SSW bei jetziger Geburt	12-13

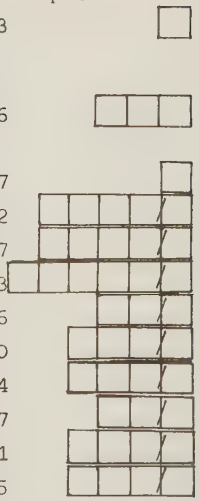
B 6	SS-Verlauf (o.B.=0, weiter bei B 7/path.=1)		14
B 6.1	Hyperemesis	(nein=0/ja=1)	15
B 6.2	Blutungen 1. Trimenon	(")	16
B 6.3	EPH-Gestose	(")	17
B 6.4	Vorzeitige Wehen	(")	18
B 6.5	Cervixinsuffizienz	(")	19
B 6.6	Vena cava-Syndrom	(")	20
B 6.7	Ablatio placentae partialis	(")	21
B 7	Allgemeinerkrankungen während der SS (nein=0, weiter bei B 8/ja=1)		22
B 7.1	Adipositas permagna	(nein=0/ja=1)	23
B 7.2	Struma diffusa	(")	24
B 7.3	Hypertonie	(")	25
B 7.4	Pyelonephritis acuta	(")	26
B 7.5	rezidivierende Harnwegsinfekte	(")	27
B 7.6	Cortisol-Substitutionstherapie	(")	28
B 8	RR bei geburtshilflicher Statuserhebung (normal=0/path. erhöht=1)		29
B 9	HCS (HPL), µg/ml		30-32
B 10	Freies Östriol (E_3), ng/ml		33-35

C	**Daten des Neugeborenen**	
C 1	Apgar 1 min	36-37
C 2	Apgar 2 min	38-39
C 3	Apgar 10 min	40-41
C 4	Gewicht, g	42-45
C 5	Länge, cm	46-47
C 6	Geschlecht (männlich=1/weiblich=2)	48
C 7	pH in Arteria umbilicalis	49-51
C 8	pH in Vena umbilicalis	52-54



D	**Geburtsverlauf**	
D 1	Art der Geburt (spontan=1/Forceps=2/Vakuum=3 Sectio=4/Beckenausgangsforceps=5/Totgeburt=6)	55
D 2	Blasensprung (in Gravidität=1/vorzeitig=2/frühzeitig=3/ rechtzeitig=4/Amniotomie=5/verspätet,Glückshaube=6)	56
D 3	Fruchtwasser (klar=0/milchig-trüb=1/gelb-grün=2/ grün-erbsbreiartig=3/sanguinolent=4)	57
D 4	Dauer der Eröffnungsperiode, min	58-60
D 5	Dauer der Austreibungsperiode, min	61-63
D 6	Dauer der Nachgeburtsperiode, min	64-65
D 7	Blutverluste (≤300 ml = 0/ >300 ml = 1)	66

		1-2 dupl.
	Lochkarten-Nr.	3
E	Plazenta und Eihäute	
E 1	Gewicht, g	4-6
E 2	Morphologie (o.B.=0/nur Infarkte=1/nur Kalk=2/ Infarkte und Kalk=3)	7
E 3	Progesteron, Amnion, ng/g	8-12
E 4	" , Chorion, "	13-17
E 5	" , Plazenta, "	18-23
E 6	5α- DHP , Amnion, "	24-26
E 7	" , Chorion, "	27-30
E 8	" , Plazenta, "	31-34
E 9	Protein , Amnion, mg/g	35-37
E 10	" , Chorion, "	38-41
E 11	" , Plazenta, "	42-45



Abkürzungen im Erhebungsheft:

SS = Schwangerschaft
SSW = Schwangerschaftswoche
o.B. = ohne pathologischen Befund
path. = pathologisch

Anmerkungen zum Erhebungsheft:

zu den Untermerkmalen von B 4, B 6 und B 7: In die hier vorliegende endgültige Fassung des Erhebungsheftes wurden nur Charakteristika aufgenommen, die im untersuchten Kollektiv auftraten.

zu B 7.3 und B 8: Eine Hypertonie wurde angenommen, wenn der systolische RR-Wert über 140 und/oder der diastolische Wert über 90 lag. B 8 bezieht sich auf die letzte geburtshilfliche Statuserhebung vor Aufnahme in den Kreißsaal.

zu B 9 und B 10: Die Blutabnahme zur Bestimmung der HCS- und Östriolwerte durch Radioimmunassay erfolgte jeweils in der Eröffnungsperiode.

zu B 4.4: Es wurde der WHO gefolgt, die eine Geburt vor Abschluß der 37. Schwangerschaftswoche als Frühgeburt definiert.

zu D 2: Die Einteilung erfolgte nach folgenden Definitionen:
In der Gravidität = vor Abschluß der 36. SSW
vorzeitig = vor Wehenbeginn
frühzeitig = vor vollständiger Muttermundsöffnung
rechtzeitig = bei vollständiger Muttermundsöffnung

4.5. Statistische Auswertung

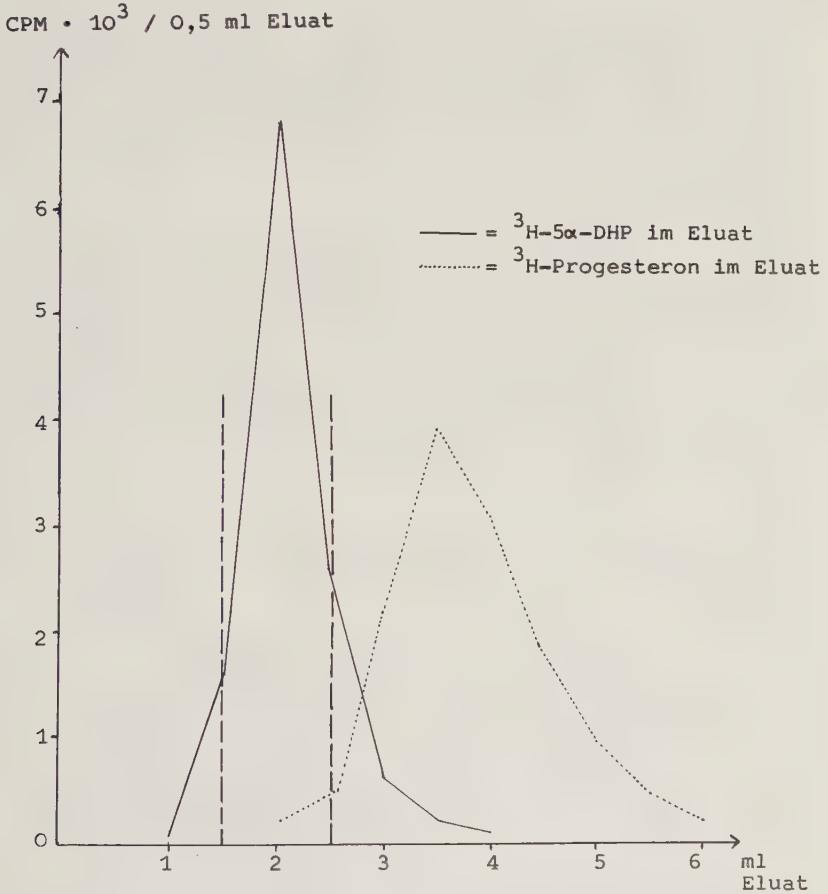
Die im Erhebungsheft gesammelten Daten wurden auf Lochkarten übertragen und in der Abteilung für Medizinische Dokumentation und Datenverarbeitung an der Chirugischen Universitätsklinik Tübingen von einer IBM 4341 - Rechenanlage statistisch ausgewertet.
Dabei stand für die Datenprüfungen das Rechenprogramm HY 03 zur Verfügung, während für die eigentliche Auswertung mit Erstellung von Häufigkeitstabellen sowie Korrelations- und Signifikanzanalysen die Programme HY 05 und SAS benutzt wurden.

5. ERGEBNISSE

5.1. Ergebnisse der Vorversuche

5.1.1. Elutionsfraktionen der Säulenchromatographie

Abb. 3: Elutionsfraktionen



Die mit ——— markierten Grenzen umschließen die von uns für die säulenchromatographische Trennung festgelegte 5α-DHP-Fraktion. Die erste Fraktion (1,5 ml) wurde verwor-

fen, die zweite Fraktion (1 ml) wurde aufgefangen (s. 4.2.4.2.).
Durch Erweiterung der 5α-DHP-Elutionsfraktion um die folgenden 0,5 ml hätte man den Wiederfindungsgrad zwar noch merklich erhöhen können, aber auf der anderen Seite schon eine deutliche Verunreinigung durch Progesteron in Kauf nehmen müssen.
In unserem Untersuchungsgut wurde mit dem geschilderten Säulenchromatographieverfahren ein durchschnittlicher Wiederfindungsanteil von 49,5 % erreicht, der damit über dem von MILEWICH et al. (1975) angegebenen Wiederfindungsgrad von 40 % 5α-DHP lag.

5.1.2. Antikörpertiter

Es wurde das Ausmaß der Antikörperbindung des verwendeten Antiserums ermittelt. Es wird ausgedrückt durch das Verhältnis von Antikörper-Nullbindung zu im Radioimmunassay eingesetzter Gesamtaktivität.
Wie Tab. 3 zeigt, mußte vom Antiserum P 110 eine Verdünnung mit Gelatinepuffer 1:600 hergestellt werden, um eine Antikörperbindung von ca. 40 % zu erzielen.

Tab. 3:

Antiserumverdünnung	1:100	1:500	1:1000
Nullbindung	85 %	46 %	23 %

5.1.3. Kreuzreaktivität des Antiserums 110

Die Kreuzreaktionen des Antiserums 110 mit 24 Steroiden sind in Tab. 4 aufgelistet.
Bei den hydroxylierten Steroidhormonen waren Kreuzreaktivitäten zwischen 3,2 % und 39,2 % zu verzeichnen. Die Kreuzreaktion mit Progesteron lag bei 100 %, diejenige mit 5α-DHP bei 90,7 %.
Die Bestimmung des 5α-DHP im Radioimmunassay unter Verwendung des Antiserums 110 erforderte also sowohl die vorherige Elimination der hydroxylierten Steroide als auch die Tren-

nung von 5α-DHP und Progesteron:
Beide Ziele wurden mit dem gewählten Säulenchromatographieverfahren (s. 4.2.4.2. und 5.1.1.) erreicht:
Das unpolare Lösungsmittel Isooctan bewirkte, daß die hydroxylierten Hormone am Säulenbeginn festgehalten wurden, während Progesteron und 5α-DHP sich durch ihr unterschiedliches Elutionsverhalten trennen ließen.

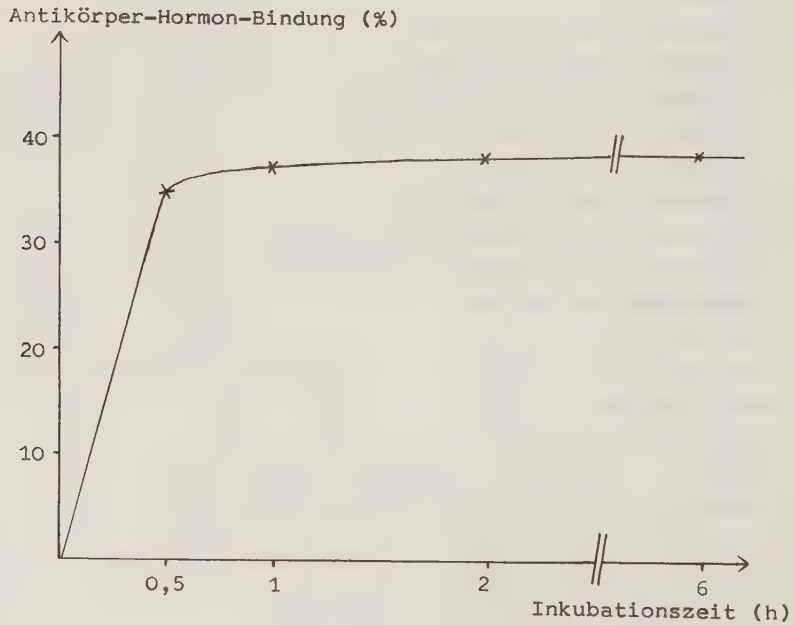
Tab. 4: Kreuzreaktivität des Antiserums 110 mit 24 Steroidhormonen

Steroidhormon	Kreuzreaktivität %
Progesteron	100
4-Pregnen-11β,17α,21-triol-3,20-dion	0
4-Pregnen-16α-ol-3,20-dion	0
4-Pregnen-21-ol-3,20-dion	26,5
4-Pregnen-17α,21-diol-3,20-dion	10,6
4-Pregnen-20β-ol-3-on	15,9
4-Pregnen-11β-ol-3,20-dion	20,3
4-Pregnen-11α-ol-3,20-dion	29,0
4-Pregnen-20α-ol-3-on	7,9
5α-Pregnan-3β-ol-20-on	39,2
5α-Pregnan-3,20-dion	90,7
Dihydroequilin	0
Equilinepoxid	0
Equilin	0
4-Androsten-17β-ol-3-on	5,3
4-Androsten-3,17-dion	0
5α-Androstan-3α,17β-diol	3,2
5α-Androstan-3β,17β-diol	0
5α-Androstan-17β-ol-3-on	6,4
5α-Androstan-3,17-dion	4,2
5α-Androstan-3α,17β-diol	5,3
Östriol	0
Östradiol	4,7
Östron	0

5.1.4. Inkubationszeit

Die Bindung des 5α-DHP an den spezifischen Antikörper in Abhängigkeit von der Inkubationsdauer wurde in Vorexperimenten analysiert, indem das Ausmaß der Bindung nach 0,5 , 1, 2 und 6 Stunden gemessen wurde.
Wie Abb. 4 zeigt, wurde bereits in der ersten halben Stunde der Inkubationszeit eine Antikörper-Hormon-Bindung von etwa 35 % erzielt.

Abb. 4: Abhängigkeit der Antikörper-Hormon-Bindung von der Inkubationszeit

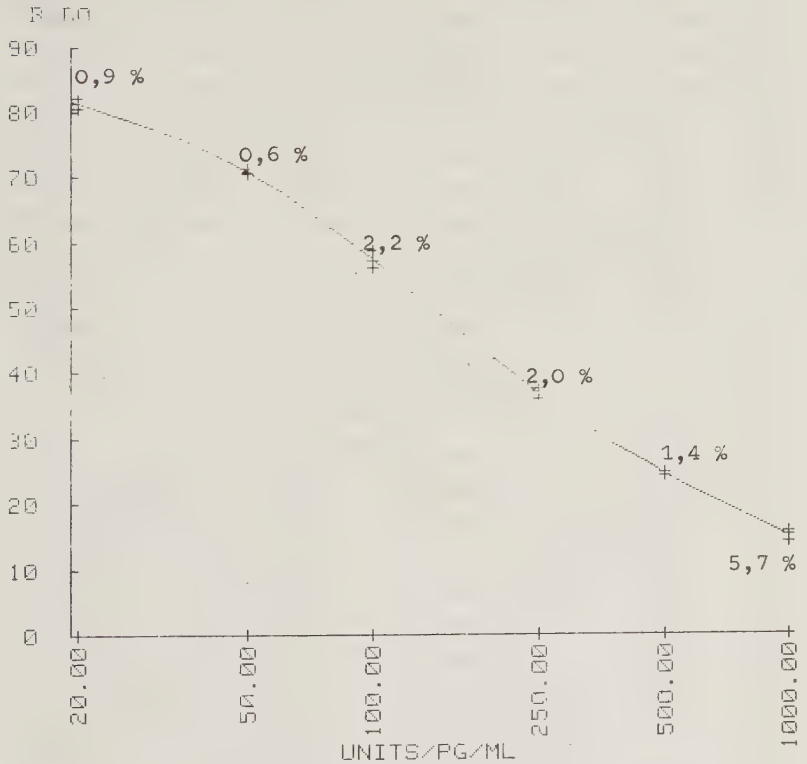


Längere Inkubationszeiten brachten nur noch eine unwesentliche Steigerung. Es wurde deshalb für alle Versuchsabläufe eine einheitliche Inkubationsdauer von 2 h festgelegt.

5.1.5. Radioimmunassay-Standardkurve

Anhand der eingegebenen Daten der Standards des Radioimmunassays fertigte der Tischrechner nach dem log spline-Modell unter Berücksichtigung der unspezifischen Bindung eine Eichkurve an (s. Abb. 5), die dann als Grundlage der Berechnung der Hormonkonzentration der Proben diente.

Abb. 5: Radioimmunassay-Standardkurve (Die Zahlen an der Kurve geben den Variationskoeffizienten der Messungen an.)



B/BO = Zählrate der Probe/Zählrate der Nullbindung
UNITS/PG/ML = in der RIA-Probe enthaltene Hormonkonzentration

5.2. Einzelergebnisse der Hormon- und Proteinkonzentrationsbestimmungen

Tab. 5: 5α-DHP- und Proteinkonzentrationen

Fall-	5α-DHP (ng/g Gewebe)			Protein (mg/g Gewebe)		
Nr.	Amnion	Chorion	Plazenta	Amnion	Chorion	Plazenta
1	31,4	61,4	457,4	17,0	73,1	123,7
2	45,8	46,9	436,1	19,3	49,7	123,7
3	17,7	35,1	245,2	28,6	97,8	101,8
4	20,1	28,6	244,6	45,4	100,8	139,4
5	40,3	53,9	412,0	21,2	29,7	173,3
6	20,8	35,2	276,5	30,3	31,3	247,0
7	19,1	30,9	479,5	26,6	46,4	187,6
8	18,2	43,4	275,7	23,8	113,7	137,1
9	28,3	52,4	347,7	33,9	36,6	168,0
10	10,0	22,4	482,3	23,2	30,7	156,4
11	34,3	54,6	469,2	26,1	47,4	126,9
12	27,7	39,1	324,1	38,8	89,8	172,1
13	17,0	42,7	363,4	21,9	33,8	144,0
14	23,5	50,0	318,0	33,2	50,0	130,6
15	25,6	31,1	393,1	48,5	50,2	113,6
16	59,5	63,8	278,1	40,7	71,6	175,7
17	37,2	41,8	262,8	64,1	68,4	91,3
18	36,9	41,2	377,0	31,0	52,3	150,0
19	22,7	24,0	300,4	22,2	56,3	169,4
20	25,6	48,1	396,0	20,3	48,3	136,9
21	60,1	106,9	529,5	28,4	68,4	237,2
22	30,8	183,3	440,5	14,5	40,4	111,3
23	39,4	68,0	222,9	43,7	92,8	163,6
24	65,1	98,2	181,7	42,4	48,8	136,6
25	31,5	80,9	224,3	21,7	67,6	191,6
26	67,4	125,9	221,6	31,0	37,3	245,1
27	32,4	54,4	351,1	25,8	33,4	206,2
28	58,5	115,6	193,9	21,9	69,3	128,8
29	15,8	80,1	232,8	16,1	38,2	120,8
30	68,2	84,6	213,8	35,7	33,1	117,7
31	64,3	99,9	458,4	27,5	55,5	225,2

Fortsetzung Tab. 5:

Fall-Nr.	5α-DHP (ng/g Gewebe)			Protein (mg/g Gewebe)		
	Amnion	Chorion	Plazenta	Amnion	Chorion	Plazenta
32	23,6	96,2	173,7	21,9	43,8	123,5
33	18,6	60,9	289,0	25,0	46,2	195,9
34	21,7	23,6	239,8	20,1	25,5	174,2
35	50,2	153,8	256,6	19,5	58,3	136,4
36	15,3	46,3	275,4	23,3	38,8	138,1
37	64,7	77,8	240,2	24,5	25,0	120,1
38	50,6	60,2	325,3	27,3	38,5	135,4
39	31,6	112,7	148,3	28,4	56,9	134,9
40	42,1	42,5	424,2	20,9	28,1	131,1
41	66,9	128,2	240,3	24,3	60,4	92,3
42	41,1	109,9	232,3	27,5	62,6	123,6
43	13,5	29,6	395,0	26,3	41,2	117,5
44	36,6	48,5	312,1	28,3	40,9	156,6
45	39,6	63,4	363,3	25,7	48,9	125,1
46	60,2	81,3	166,2	26,7	21,8	159,0
47	58,2	83,3	249,0	22,8	40,0	85,4
48	53,9	81,2	686,4	19,8	99,6	138,8
49	34,5	35,7	175,1	25,1	33,4	180,7
50	53,3	144,4	325,3	29,4	76,2	142,7
51	21,0	77,8	283,7	17,4	23,0	133,7
52	43,0	58,8	252,5	32,9	60,0	152,6
53	29,6	37,3	586,3	28,7	19,6	180,8
54	24,0	52,5	461,3	26,9	24,5	133,7
55	38,9	90,1	199,1	19,5	71,3	149,4
56	13,0	39,8	242,3	16,1	51,3	177,5
57	22,1	53,8	416,2	15,6	43,0	153,8
58	61,5	68,7	244,8	39,3	69,5	146,3
59	91,2	103,2	261,8	38,8	37,0	147,2
60	38,7	108,0	271,3	27,4	84,2	161,8
61	48,6	129,2	308,2	29,7	48,2	189,4
62	66,3	70,4	208,0	44,5	73,2	131,6
63	20,8	105,7	345,4	18,8	49,8	143,5
64	21,6	75,2	300,6	27,6	36,0	159,6

Fortsetzung Tab. 5:

Fall-	5α-DHP (ng/g Gewebe)			Protein (mg/g Gewebe)		
Nr.	Amnion	Chorion	Plazenta	Amnion	Chorion	Plazenta
65	66,9	113,8	525,2	29,3	24,8	247,5
66	30,9	42,7	244,2	27,4	37,4	125,4
67	57,4	69,9	525,8	28,8	23,5	241,6
68	24,0	28,5	175,1	14,9	29,1	113,4
69	65,8	98,9	351,5	39,7	44,9	227,1
70	36,7	78,1	363,0	37,9	28,7	119,6
71	16,8	95,9	413,7	32,3	41,1	176,0
72	27,1	50,4	325,9	22,7	24,9	166,2
MW	38,1	70,9	319,0	27,9	50,3	153,7
STD	18,4	34,4	107,2	9,0	21,3	38,3
Min.	10,0	22,4	148,3	14,5	21,8	85,4
Max.	91,2	183,3	686,4	64,1	113,7	247,5

MW = Mittelwert
STD = Standardabweichung
Min.= Minimum
Max.= Maximum

5.3. Vergleich der 5α-DHP-Konzentrationen in den drei untersuchten Gewebearten

Die 5α-DHP-Konzentrationen in Amnion, Chorion und Plazenta verhielten sich im Mittel ungefähr wie 1:2:8 zueinander, mit allerdings beträchtlichen Abweichungen von dieser Relation in den Einzelfällen.
Jedoch lagen die 5α-DHP-Konzentrationen im Chorion in allen Fällen über denen im Amnion, diejenigen im Plazentagewebe immer über denen im Chorion.
Beim Proteingehalt der Gewebe, wo sich das Konzentrationsverhältnis Amnion zu Chorion zu Plazenta im Durchschnitt auf etwa 1:2:6 belief, wurde in 7 Fällen im Amnion eine höhere Proteinkonzentration gemessen als im Chorion. In den Pla-

zentaproben war der Proteingehalt stets höher als in den Fetalen Membranen.
Das Verhältnis der 5α-DHP-Konzentrationen in Amnion und Chorion ist in Abb. 6 in Form einer Punktwolke dargestellt. Die beiden Hormonspiegel sind auf dem 99%-Niveau (p = 0,01) signifikant positiv korreliert mit einem Korrelationskoeffizienten nach Pearson von r = 0,531.
Zwischen den 5α-DHP-Spiegeln in Amnion und Plazenta (s. Abb. 7) bzw. Chorion und Plazenta (s. Abb. 8) bestehen keine signifikanten Zusammenhänge.

Abb. 6: 5α-DHP im Amnion zu 5α-DHP im Chorion

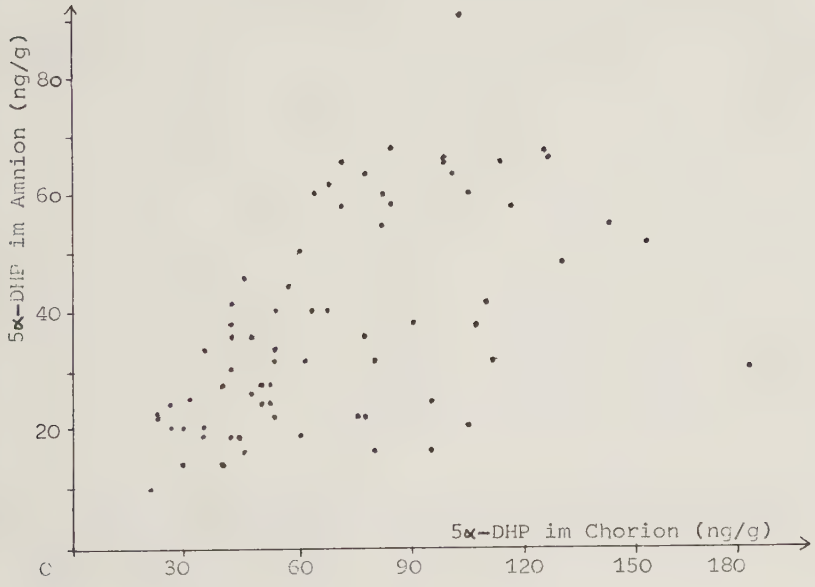


Abb. 7: 5α-DHP im Amnion zu 5α-DHP in der Plazenta

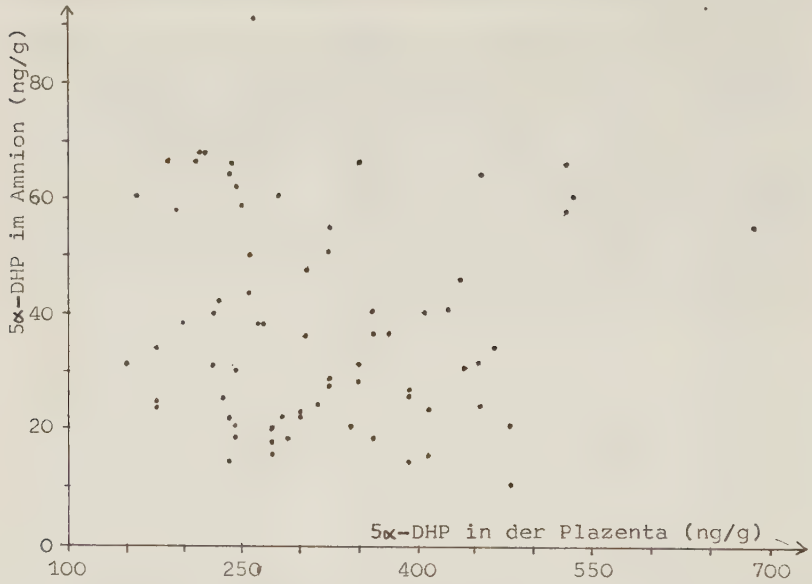
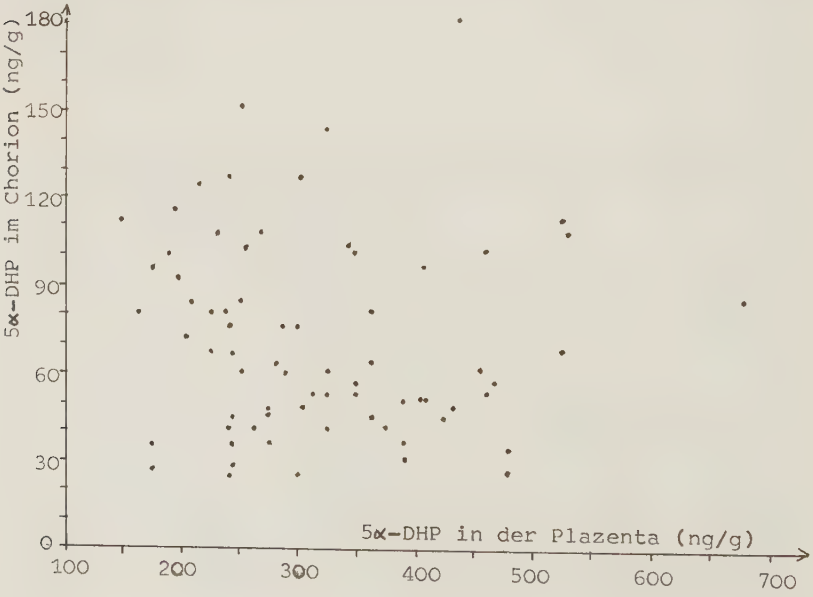


Abb. 8: 5α-DHP im Chorion zu 5α-DHP in der Plazenta



5.4. Relation der 5α-DHP-Konzentration zum Proteingehalt

Der Quotient $\frac{\text{5α-DHP-Konzentration (ng/g)}}{\text{Protein-Konzentration (mg/g)}}$ beträgt

im Amnion	1,42 ± 0,65 ,
im Chorion	1,62 ± 0,95 und
in der Plazenta	2,16 ± 0,80

(jeweils Mittelwert und Standardabweichung, n = 71).

Eine signifikante Korrelation zwischen 5α-DHP- und Proteingehalt besteht in keinem der drei Gewebe (s. Abb. 9 bis 11).

Abb. 9: 5α-DHP im Amnion zu Protein im Amnion

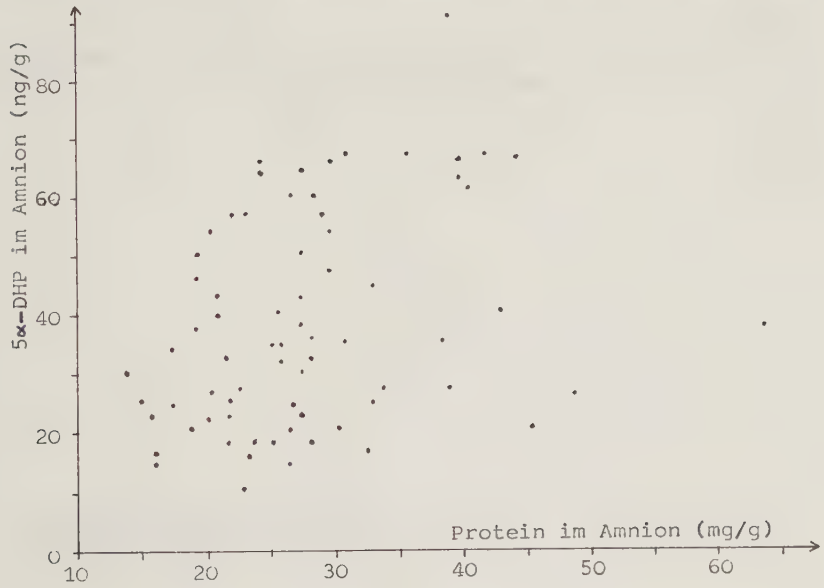


Abb. 10: 5α-DHP im Chorion zu Protein im Chorion

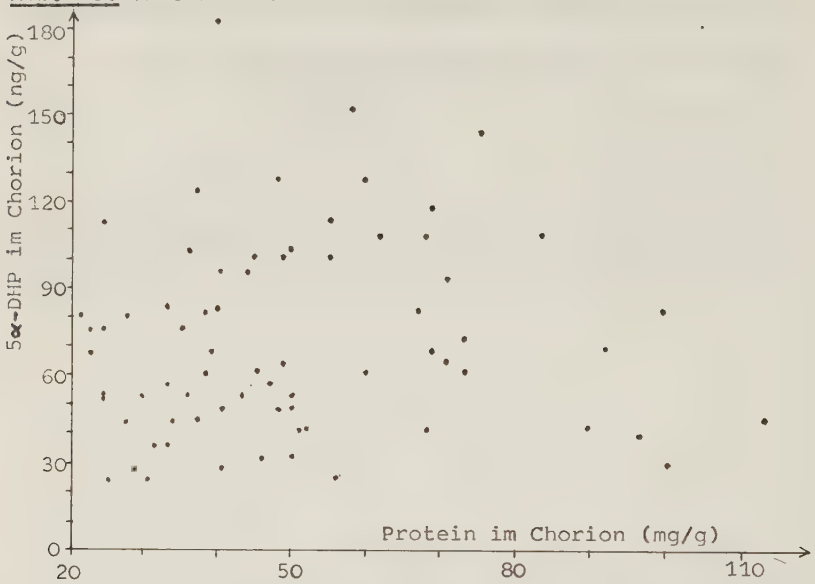
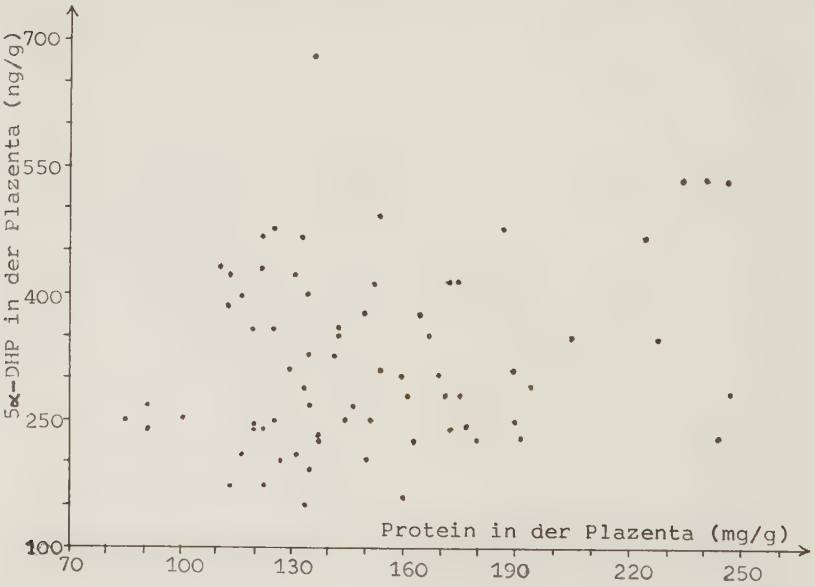


Abb. 11: 5α-DHP in der Plazenta zu Protein in der Plazenta



5.5. Relation der 5α-DHP-Konzentration zum Progesterongehalt

Die 5α-DHP-Konzentration wurde zu der von KIEFER (in Vorbereitung) in denselben Gewebeproben radioimmunologisch gemessenen Progesteronkonzentration in Beziehung gesetzt.

Mittelwert und Standardabweichung des errechneten Quotienten

$$\frac{\text{5α-DHP-Konzentration (ng/g)}}{\text{Progesteron-Konzentration (ng/g)}}$$

belaufen sich auf $0{,}12 \pm 0{,}06$ im Amnion,
auf $0{,}05 \pm 0{,}03$ im Chorion und
auf $0{,}04 \pm 0{,}02$ im Plazentagewebe ($n = 71$).

Die für das Amniongewebe erstellte Punktwolke (Abb. 12) weist fünf sehr stark abweichende Progesteronwerte auf, die etwa zwei bis fünf Standardabweichungen oberhalb des Mittelwertes liegen. Dadurch sind die 5α-DHP- und Progesteronkonzentrationen im Gesamtkollektiv im Amnion nicht signifikant korreliert.

Die positive Korrelation der Spiegel beider Hormone im Chorion (s. Abb. 13) ist auf dem 99%-Niveau signifikant ($p = 0{,}01$) mit einem Pearson-Korrelationskoeffizienten von $r = 0{,}45$.

Ein signifikanter Zusammenhang der Hormonspiegel im Plazentagewebe existiert dagegen nicht (s. Abb. 14).

Abb. 12: 5α-DHP im Amnion zu Progesteron im Amnion

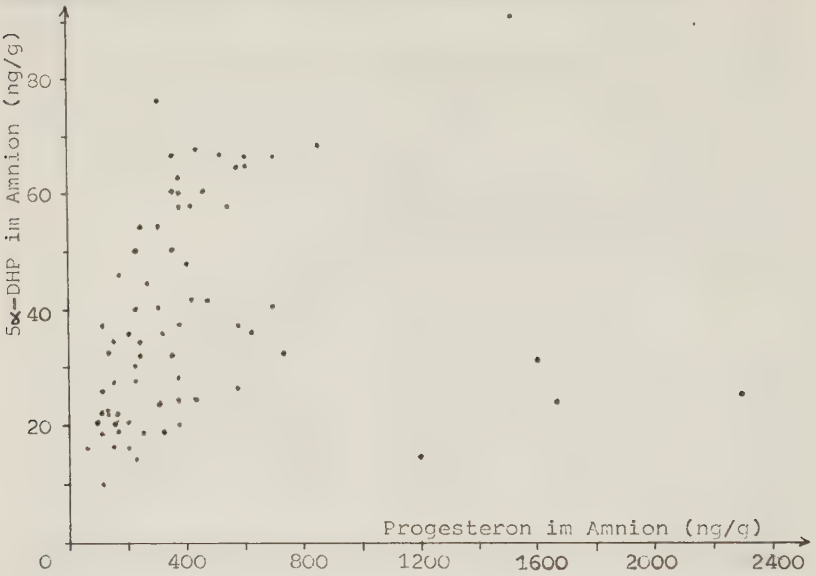


Abb. 13: 5α-DHP im Chorion zu Progesteron im Chorion

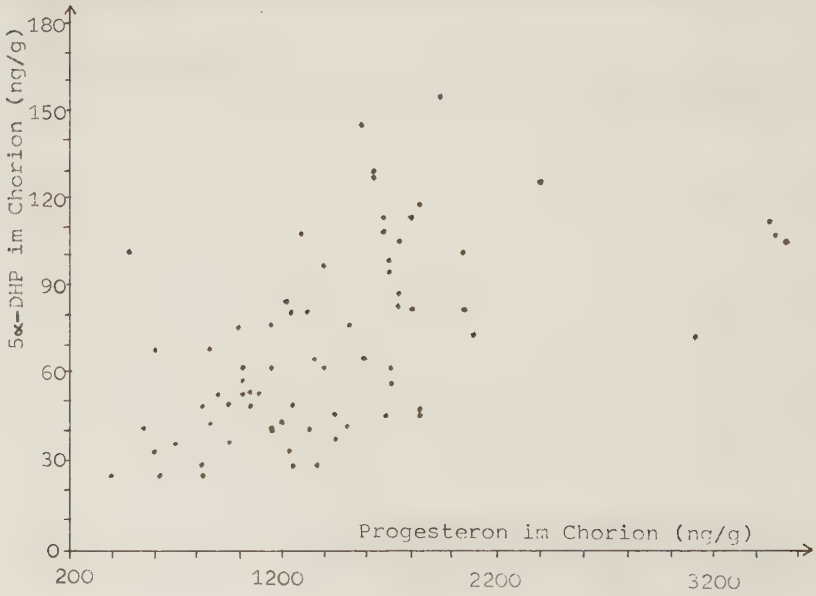
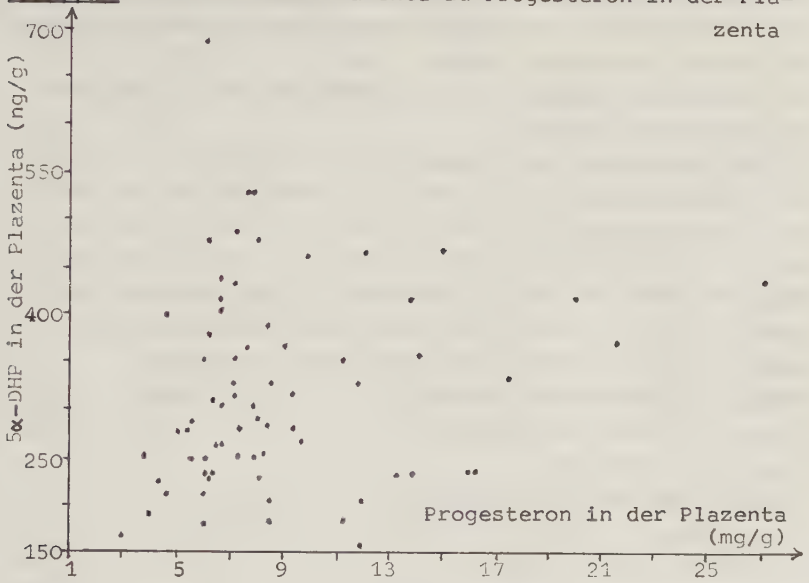


Abb. 14: 5α-DHP in der Plazenta zu Progesteron in der Plazenta



5.6. Abhängigkeit der 5α-DHP-Konzentration von geburtshilflichen Daten

In der Reihenfolge des Erhebungsheftes (s. S. 35-38) sind auf den folgenden Seiten geburtshilflich wichtige Parameter in tabellarischer Form den Ergebnissen der radioimmunologischen Bestimmung des 5α-DHP sowie den 5α-DHP-Progesteron-Quotienten und 5α-DHP-Protein-Quotienten gegenübergestellt.
Der erste Teil der Tabellen gibt jeweils eine Einteilung in Merkmalsgruppen und zugleich die absolute und relative Häufigkeit der Gruppen im Gesamtkollektiv an. Die Gruppeneinteilung erfolgte, soweit keine speziellen Angaben gemacht sind, mit dem statistisch-praktischen Ziel, eine annähernd homogene Besetzung der Merkmalsgruppen zu erreichen.
In einigen Fällen, vor allem bei qualitativen und diskreten Variablen, wo die Einteilung nicht beliebig gewählt werden konnte, ist die Häufigkeit einer Gruppe zu gering, um eine statistische Aussage zu ermöglichen.
Zweiter, dritter und vierter Teil der Tabellen enthalten für

die Merkmalsgruppen die Mittelwerte und Standardabweichungen der 5α-DHP-Werte, der 5α-DHP-Progesteron-Quotienten sowie der 5α-DHP-Protein-Quotienten, jeweils in Amnion, Chorion und Plazenta. Die Zahlen wurden dabei auf die letzte angegebene Stelle gerundet.

Von der Auswertung ausgenommen wurden Erhebungsheft-Variablen mit zwei Merkmalsgruppen, von denen die eine nur mit drei oder weniger Fällen besetzt war. Zur Charakterisierung des Probandenkollektivs seien hier die absoluten und relativen Häufigkeiten dieser Variablen in der gesamten Stichprobe von n = 71 erwähnt. Das im Erhebungsheft benutzte Variablen-Kennzeichen steht jeweils in Klammern:

Frühere Interruptiones (B 4.2)	n = 3 (4,2 %)
Frühere Frühgeburten (B 4.4)	n = 1 (1,4 %)
Hyperemesis (B 6.1)	n = 2 (2,8 %)
Blutungen im ersten Trimenon (B 6.2)	n = 3 (4,2 %)
EPH-Gestose (B 6.3)	n = 2 (2,8 %)
Cervixinsuffizienz (B 6.5)	n = 3 (4,2 %)
Vena-cava-Syndrom (B 6.6)	n = 1 (1,4 %)
Ablatio placentae partialis (B 6.7)	n = 1 (1,4 %)
Adipositas permagna (B 7.1)	n = 1 (1,4 %)
Hypertonie (B 7.3)	n = 1 (1,4 %)
Pyelonephritis acuta (B 7.4)	n = 1 (1,4 %)
Rezidivierende Harnwegsinfekte (B 7.5)	n = 1 (1,4 %)
Cortisol-Substitutionstherapie (B 7.6)	n = 1 (1,4 %)
Erhöhung des arteriellen Blutdrucks (B 8)	n = 3 (4,2 %)

Die in den folgenden Tabellen verwendeten Abkürzungen bedeuten:

DHP = 5α-Dihydroprogesteron
Prog = Progesteron
Prot = Protein
A = Amnion
C = Chorion
P = Plazenta
n = Anzahl der Fälle

5.6.1. Daten der Mutter

Tab. 6: Alter bei Entbindung (n = 71).

	vollendete Jahre	Anzahl der Fälle
I =	19 - 22	17 (23,9 %)
II =	23 - 27	20 (28,2 %)
III =	28 - 32	21 (29,6 %)
IV =	33 - 41	13 (18,3 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	29,9 ± 14,5	66,1 ± 35,7	305,7 ± 69,5
II	36,7 ± 22,2	65,6 ± 36,0	313,9 ± 98,8
III	44,9 ± 18,1	78,2 ± 37,5	344,3 ± 135,4
IV	40,1 ± 73,8	73,8 ± 25,2	303,2 ± 113,3

	DHP A (ng/g) / Prog A (ng/g)	DHP C (ng/g) / Prog C (ng/g)	DHP P (ng/g) / Prog P (ng/g)
I	0,11 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
II	0,14 ± 0,05	0,06 ± 0,04	0,04 ± 0,02
III	0,11 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
IV	0,13 ± 0,08	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,02

	DHP A (ng/g) / Prot A (mg/g)	DHP C (ng/g) / Prot C (mg/g)	DHP P (ng/g) / Prot P (mg/g)
I	1,23 ± 0,54	1,53 ± 0,81	2,10 ± 0,64
II	1,18 ± 0,66	1,23 ± 0,74	2,00 ± 0,60
III	1,72 ± 0,64	2,11 ± 1,21	2,24 ± 1,01
IV	1,56 ± 0,62	1,52 ± 0,61	2,39 ± 0,95

Der Kruskal-Wallis-Test zeigt die Tendenz ($p = 0{,}046$), daß hinsichtlich der Zuordnung der 5α-DHP-Spiegel im Amnion zu den genannten Altersklassen Unterschiede bestehen. Darüberhinaus konnten in der Zuordnung der in Tab. 6 aufgeführten Meßwerte bzw. Quotienten zu den Merkmalsgruppen keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 7: Anzahl der Geburten einschließlich der jetzigen (n = 71).

	Anzahl der Geburten	Anzahl der Fälle
I	1	32 (45,0 %)
II	2	23 (32,4 %)
III	3	10 (14,1 %)
IV	4 - 6	6 (8,5 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	38,2 ± 18,6	72,3 ± 36,9	297,0 ± 92,7
II	32,2 ± 15,2	65,8 ± 34,3	365,4 ± 114,6
III	46,7 ± 22,6	73,5 ± 32,3	315,4 ± 110,5
IV	45,5 ± 16,0	79,1 ± 29,4	263,9 ± 105,4

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,11 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,01
II	0,12 ± 0,06	0,06 ± 0,03	0,04 ± 0,02
III	0,14 ± 0,05	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
IV	0,15 ± 0,09	0,04 ± 0,02	0,03 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,34 ± 0,61	1,50 ± 0,74	2,05 ± 0,66
II	1,41 ± 0,64	1,77 ± 1,19	2,47 ± 0,93
III	1,61 ± 0,83	1,47 ± 0,91	2,00 ± 0,71
IV	1,57 ± 0,64	1,89 ± 1,06	1,81 ± 0,94

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 8: Anzahl der Graviditäten einschließlich der jetzigen (n = 71).

	Anzahl der Graviditäten	Anzahl der Fälle
I	1	24 (33,8 %)
II	2	27 (38,0 %)
III	3	9 (12,7 %)
IV	4 - 7	11 (15,5 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	37,9 ± 18,5	70,2 ± 38,8	300,6 ± 99,5
II	34,2 ± 16,9	68,9 ± 35,6	330,6 ± 92,7
III	36,4 ± 15,2	63,7 ± 28,1	395,6 ± 148,5
IV	49,7 ± 21,3	84,1 ± 25,8	267,8 ± 91,2

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,07	0,05 ± 0,04	0,04 ± 0,02
II	0,11 ± 0,05	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
III	0,15 ± 0,05	0,05 ± 0,03	0,05 ± 0,03
IV	0,14 ± 0,07	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,39 ± 0,64	1,45 ± 0,72	2,08 ± 0,74
II	1,34 ± 0,58	1,80 ± 1,14	2,26 ± 0,73
III	1,39 ± 0,72	1,02 ± 0,44	2,47 ± 1,19
IV	1,72 ± 0,77	2,02 ± 0,94	1,83 ± 0,70

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 9: Frühere Schwangerschaften: Anzahl der Schwangerschaften ohne pathologischen Befund (n = 71).

	Anzahl SS o.B.	Anzahl der Fälle
I	0	33 (46,5 %)
II	1	23 (32,4 %)
III	2	9 (12,7 %)
IV	3 - 5	6 (8,4 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	39,0 ± 18,9	73,1 ± 36,6	301,9 ± 95,5
II	32,3 ± 15,2	65,8 ± 34,3	365,4 ± 114,6
III	44,7 ± 23,1	70,6 ± 32,8	299,5 ± 104,4
IV	45,5 ± 16,0	79,1 ± 29,4	263,9 ± 105,1

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,11 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,01
II	0,12 ± 0,06	0,06 ± 0,03	0,04 ± 0,02
III	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
IV	0,15 ± 0,09	0,04 ± 0,02	0,03 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,37 ± 0,63	1,51 ± 0,73	2,05 ± 0,65
II	1,41 ± 0,64	1,77 ± 1,19	2,47 ± 0,93
III	1,53 ± 0,83	1,43 ± 0,95	1,98 ± 0,75
IV	1,57 ± 0,64	1,89 ± 1,06	1,81 ± 0,94

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 10: Frühere Schwangerschaften: Anzahl der Aborte (n = 71)

	Anzahl der Aborte	Anzahl der Fälle
I	0	56 (78,9 %)
II	1 - 2	15 (21,1 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	36,4 ± 17,4	68,4 ± 35,9	321,5 ± 100,5
II	44,5 ± 20,9	80,2 ± 27,4	309,5 ± 132,8

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,12 ± 0,07	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,03

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,39 ± 0,64	1,59 ± 0,98	2,16 ± 0,76
II	1,54 ± 0,69	1,72 ± 0,81	2,16 ± 0,97

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 11: Schwangerschaftswoche bei jetziger Geburt (n = 71).

	Schwangerschaftswoche	Anzahl der Fälle
I	31. - 38.	9 (12,7 %)
II	39. - 42.	59 (83,1 %)
III	43. - 44.	3 (4,2 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	42,0 ± 23,6	82,9 ± 33,6	357,7 ± 99,6
II	38,2 ± 17,7	70,2 ± 34,9	309,5 ± 106,7
III	24,4 ± 6,9	49,7 ± 13,4	388,0 ± 123,7

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
II	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
III	0,13 ± 0,08	0,04 ± 0,004	0,04 ± 0,01

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,58 ± 0,70	1,81 ± 0,69	2,16 ± 0,84
II	1,41 ± 0,65	1,61 ± 0,98	2,11 ± 0,78
III	1,12 ± 0,64	1,11 ± 0,91	3,19 ± 0,68

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen I und II konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.
Wegen der geringen Fallzahl ist bezüglich Merkmalsgruppe III keine statistische Aussage möglich.

Tab. 12: Schwangerschaftsverlauf (n = 71).

	Schwangerschaftsverlauf	Anzahl der Fälle
I	ohne pathologischen Befund	16 (22,5 %)
II	pathologisch	55 (77,5 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	39,5 ± 19,2	68,8 ± 32,4	321,3 ± 114,1
II	33,3 ± 14,6	78,2 ± 40,9	311,0 ± 81,7

	DHP A (ng/g) / Prog A (ng/g)	DHP C (ng/g) / Prog C (ng/g)	DHP P (ng/g) / Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,07	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,12 ± 0,04	0,06 ± 0,03	0,04 ± 0,02

	DHP A (ng/g) / Prot A (mg/g)	DHP C (ng/g) / Prot C (mg/g)	DHP P (ng/g) / Prot P (mg/g)
I	1,36 ± 0,67	1,87 ± 1,04	2,23 ± 0,83
II	1,44 ± 0,65	1,54 ± 0,91	2,14 ± 0,80

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 13: Schwangerschaftsverlauf: Vorzeitige Wehen (n = 71).

	Vorzeitige Wehen	Anzahl der Fälle
I	nein	62 (87,3 %)
II	ja	9 (12,7 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	39,1 ± 18,5	70,5 ± 34,9	319,7 ± 111,9
II	31,6 ± 16,9	73,7 ± 32,5	314,0 ± 70,3

	DHP A (ng/g) / Prog A (ng/g)	DHP C (ng/g) / Prog A (ng/g)	DHP P (ng/g) / Prog P (ng/g)
I	0,13 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,11 ± 0,03	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01

	DHP A (ng/g) / Prot A (mg/g)	DHP C (ng/g) / Prot C (mg/g)	DHP P (ng/g) / Prot P (mg/g)
I	1,44 ± 0,64	1,59 ± 0,97	2,18 ± 0,82
II	1,27 ± 0,73	1,81 ± 0,77	2,04 ± 0,67

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 14: Allgemeinerkrankungen während der Schwangerschaft (n = 71).

	Allgemeinerkrankungen	Anzahl der Fälle
I	nein	59 (83,1 %)
II	ja	12 (16,9 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	38,8 ± 18,1	70,5 ± 32,9	322,8 ± 108,6
II	34,8 ± 20,0	72,8 ± 42,8	300,2 ± 102,0

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
II	0,14 ± 0,06	0,07 ± 0,05	0,05 ± 0,01

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,43 ± 0,63	1,60 ± 0,91	2,14 ± 0,78
II	1,37 ± 0,75	1,71 ± 1,16	2,25 ± 0,92

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 15: Allgemeinerkrankungen während der Schwangerschaft: Struma diffusa (n = 71).

	Struma diffusa	Anzahl der Fälle
I	nein	64 (90,1 %)
II	ja	7 (9,9 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	38,1 ± 18,1	70,2 ± 32,0	319,1 ± 105,7
II	38,8 ± 22,0	77,8 ± 54,8	317,6 ± 128,8

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
II	0,17 ± 0,06	0,08 ± 0,07	0,05 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,42 ± 0,64	1,60 ± 0,89	2,14 ± 0,76
II	1,47 ± 0,77	1,75 ± 1,45	2,31 ± 1,18

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 16: HCS- (HPL-)Spiegel (n = 71).

	HCS- (HPL-)Spiegel	Anzahl der Fälle
I	normal+	65 (91,6 %)
II	erniedrigt+	5 (7,0 %)
III	erhöht+	1 (1,4 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	37,6 ± 17,3	70,1 ± 34,6	318,6 ± 105,9
II	39,4 ± 30,1	72,9 ± 32,3	282,8 ± 96,5
III	66,9	113,8	525,2

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,12 ± 0,05	0,05 ± 0,01	0,03 ± 0,01
III	0,11	0,06	0,05

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,41 ± 0,65	1,56 ± 0,90	2,18 ± 0,82
II	1,37 ± 0,62	1,68 ± 0,70	1,91 ± 0,57
III	2,28	4,59	2,12

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen I und II konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.
Da es sich bei Merkmalsgruppe III um einen einzelnen Fall handelt, ist eine statistische Aussage nicht möglich.

+ Die Zuordnung zu den Merkmalsgruppen erfolgte nach der von der Universitäts-Frauenklinik Tübingen verwendeten Normalwerte-Tabelle (95%-Vertrauensbereich eines Normalkollektivs/ Amersham).

Tab. 17: Freies Östriol (E_3) (n = 71).

	Freies Östriol	Anzahl der Fälle
I	normal[+]	63 (88,7 %)
II	erniedrigt[+]	5 (7,1 %)
III	erhöht[+]	3 (4,2 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	38,1 ± 18,2	72,9 ± 35,7	321,3 ± 108,5
II	32,7 ± 19,7	49,5 ± 15,1	281,5 ± 93,2
III	47,6 ± 22,3	65,8 ± 16,8	333,5 ± 124,0
	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,11 ± 0,09	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,03
III	0,12 ± 0,05	0,05 ± 0,004	0,04 ± 0,01

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,43 ± 0,67	1,63 ± 0,99	2,16 ± 0,82
II	1,25 ± 0,37	1,15 ± 0,28	1,94 ± 0,56
III	1,55 ± 0,57	2,08 ± 0,50	2,56 ± 0,83

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen I und II konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.
Wegen der geringen Fallzahl ist bezüglich Merkmalsgruppe III keine statistische Aussage möglich.

[+] Die Zuordnung zu den Merkmalsgruppen erfolgte nach der von der Universitäts-Frauenklinik Tübingen verwendeten Normalwerte-Tabelle (95%-Vertrauensbereich eines Normalkollektivs/ Amersham).

5.6.2. Daten des Neugeborenen

Tab. 18: APGAR nach 1 min (n = 71).

	APGAR nach 1 min	Anzahl der Fälle
I	8 - 10	63 (88,7 %)
II	4 - 7	7 (9,9 %)
III	0 - 3	1 (1,4 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	36,7 ± 18,0	69,9 ± 34,0	321,0 ± 111,7
II	46,6 ± 18,9	75,9 ± 41,1	296,1 ± 65,9
III	65,8	98,9	351,5

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,11 ± 0,04	0,06 ± 0,02	0,04 ± 0,02
III	0,18	0,03	0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,39 ± 0,61	1,59 ± 0,95	2,13 ± 0,82
II	1,70 ± 0,97	1,73 ± 1,02	2,56 ± 0,59
III	1,66	2,20	1,55

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen I und II konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.
Da es sich bei Merkmalsgruppe III um einen einzelnen Fall handelt, ist eine statistische Aussage nicht möglich.

Tab. 19: APGAR nach 5 min (n = 71).

	APGAR nach 5 min	Anzahl der Fälle
I	9 - 10	66 (93,0 %)
II	6 - 8	4 (5,6 %)
III	0 - 5	1 (1,4 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	37,5 ± 18,0	71,3 ± 34,9	318,7 ± 109,7
II	43,4 ± 23,1	58,0 ± 26,6	315,3 ± 82,0
III	65,8	98,9	351,5

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,12 ± 0,05	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,02
III	0,18	0,03	0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,40 ± 0,63	1,60 ± 0,95	2,14 ± 0,81
II	1,73 ± 1,04	1,68 ± 1,15	2,70 ± 0,58
III	1,66	2,20	1,55

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen I und II konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.
Da es sich bei Merkmalsgruppe III um einen einzelnen Fall handelt, ist eine statistische Aussage nicht möglich.

Tab. 20: APGAR nach 10 min (n = 71).

	APGAR nach 10 min	Anzahl der Fälle
I	10	63 (88,7 %)
II	8 - 9	7 (9,9 %)
III	0 - 7	1 (1,4 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	37,6 ± 18,5	70,3 ± 34,5	320,0 ± 111,4
II	38,7 ± 15,6	72,6 ± 37,3	297,0 ± 66,4
III	65,8	98,9	351,5

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,11 ± 0,04	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
III	0,18	0,03	0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,43 ± 0,65	1,62 ± 0,95	2,17 ± 0,81
II	1,35 ± 0,72	1,48 ± 1,00	2,18 ± 0,78
III	1,66	2,20	1,55

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen I und II konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.
Da es sich bei Merkmalsgruppe III um einen einzelnen Fall handelt, ist eine statistische Aussage nicht möglich.

Tab. 21: Gewicht des Neugeborenen (n = 71).

	Geburtsgewicht	Anzahl der Fälle
I	normal[+]	55 (77,5 %)
II	erniedrigt[+]	2 (2,8 %)
III	erhöht[+]	14 (19,7 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	39,8 ± 19,1	70,2 ± 31,1	314,1 ± 112,0
II	30,6 ± 21,6	46,6 ± 0,4	355,8 ± 113,6
III	32,8 ± 14,8	77,1 ± 47,2	332,7 ± 90,9

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,21 ± 0,05	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,02
III	0,12 ± 0,06	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,44 ± 0,60	1,61 ± 0,91	2,04 ± 0,76
II	1,51 ± 1,22	1,07 ± 0,18	2,76 ± 1,08
III	1,34 ± 0,80	1,71 ± 1,16	2,57 ± 0,83

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen I und III konnten keine Unterschiede nachgewiesen Werden.
Wegen der geringen Fallzahl ist bezüglich Merkmalsgruppe II keine statistische Aussage möglich.

[+]Die Zuordnung zu den Merkmalsgruppen erfolgte nach BERGMANN et al. (1977) unter Berücksichtigung des Gestationsalters. Werte unterhalb der 10. Percentile wurden als erniedrigt eingestuft, Werte oberhalb der 90. Percentile als erhöht.

Tab. 22: Länge des Neugeborenen (n = 71).

	Länge	Anzahl der Fälle
I	normal[+]	59 (83,1 %)
II	erniedrigt[+]	2 (2,8 %)
III	erhöht[+]	10 (14,1 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	38,2 ± 19,0	70,1 ± 32,7	313,8 ± 108,1
II	38,7 ± 10,1	63,9 ± 24,0	330,2 ± 149,8
III	37,9 ± 16,9	77,0 ± 47,0	347,1 ± 98,6

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,19 ± 0,08	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,02
III	0,12 ± 0,06	0,06 ± 0,04	0,05 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,41 ± 0,63	1,60 ± 0,90	2,07 ± 0,75
II	1,91 ± 0,65	1,07 ± 0,18	2,35 ± 1,67
III	1,42 ± 0,80	1,84 ± 1,29	2,67 ± 0,86

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen I und III konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.
Wegen der geringen Fallzahl ist bezüglich Merkmalsgruppe II keine statistische Aussage möglich.

[+]Die Zuordnung zu den Merkmalsgruppen erfolgte nach BERGMANN et al. (1977) unter Berücksichtigung des Gestationsalters. Werte unterhalb der 10. Percentile wurden als erniedrigt eingestuft, Werte oberhalb der 90. Percentile als erhöht.

Tab. 23 : Geschlecht des Neugeborenen (n = 71).

	Geschlecht	Anzahl der Fälle
I	männlich	36 (50,7 %)
II	weiblich	35 (49,3 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	42,7 ± 21,0	78,1 ± 37,0	320,9 ± 107,7
II	33,5 ± 13,9	63,5 ± 30,3	317,0 ± 108,2

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,05	0,06 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,12 ± 0,07	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,54 ± 0,67	1,89 ± 1,05	2,11 ± 0,67
II	1,30 ± 0,61	1,34 ± 0,74	2,21 ± 0,93

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 24: pH in der Arteria umbilicalis (n = 69).

	pH (Arteria umbilicalis)	Anzahl der Fälle
I	7,00 - 7,24	21 (30,4 %)
II	7,25 - 7,29	22 (31,9 %)
III	7,30 - 7,34	19 (27,5 %)
IV	7,35 - 7,50	7 (10,2 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	36,5 ± 19,0	62,8 ± 34,8	299,7 ± 124,5
II	38,2 ± 20,8	72,8 ± 31,7	288,3 ± 88,4
III	39,7 ± 14,6	71,3 ± 40,0	346,7 ± 92,9
IV	33,0 ± 19,6	76,0 ± 22,4	394,9 ± 122,5

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,13 ± 0,06	0,05 ± 0,04	0,04 ± 0,02
II	0,10 ± 0,05	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,01
III	0,15 ± 0,07	0,06 ± 0,03	0,05 ± 0,02
IV	0,10 ± 0,06	0,06 ± 0,02	0,04 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,33 ± 0,75	1,25 ± 0,71	2,13 ± 1,00
II	1,42 ± 0,68	1,93 ± 1,09	2,01 ± 0,63
III	1,54 ± 0,54	1,47 ± 0,93	2,34 ± 0,78
IV	1,32 ± 0,65	1,90 ± 0,87	2,40 ± 0,76

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 25: pH in der Vena umbilicalis (n = 69).

	pH (Vena umbilicalis)	Anzahl der Fälle
I	7,10 - 7,34	23 (33,3 %)
II	7,35 - 7,39	28 (40,6 %)
III	7,40 - 7,60	18 (26,1 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	35,0 ± 17,9	66,7 ± 38,0	321,3 ± 126,1
II	37,4 ± 16,9	75,7 ± 36,9	302,2 ± 88,7
III	41,1 ± 27,1	64,0 ± 22,1	340,9 ± 114,7

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,13 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
II	0,12 ± 0,07	0,06 ± 0,04	0,04 ± 0,02
III	0,12 ± 0,07	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,42 ± 0,76	1,40 ± 0,93	2,16 ± 0,94
II	1,32 ± 0,59	1,77 ± 1,00	2,11 ± 0,77
III	1,56 ± 0,63	1,56 ± 0,88	2,31 ± 0,72

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

5.6.3. Daten des Geburtsverlaufes

Tab. 26: Art der Geburt (n = 71).

	Art der Geburt	Anzahl der Fälle
I	spontan	56 (78,9 %)
II	Forceps+ oder Vakuum	9 (12,7 %)
III	Sectio caesarea	6 (8,4 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	37,2 ± 17,8	71,3 ± 35,1	327,4 ± 107,8
II	39,2 ± 22,5	72,0 ± 32,8	288,9 ± 111,7
III	44,7 ± 19,1	65,7 ± 35,2	285,3 ± 96,5

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
II	0,14 ± 0,08	0,06 ± 0,05	0,04 ± 0,02
III	0,16 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,01

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,42 ± 0,64	1,64 ± 0,97	2,18 ± 0,79
II	1,36 ± 0,75	1,73 ± 0,69	2,26 ± 0,77
III	1,52 ± 0,70	1,26 ± 1,08	1,83 ± 1,00

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

+ incl. Beckenausgangsforceps

Tab. 27: Zeitpunkt des Blasensprungs (n = 71).

	Zeitpunkt des Blasensprungs	Anzahl der Fälle
I	in der Gravidität	2 (2,8 %)
II	vorzeitig	13 (18,3 %)
III	frühzeitig	32 (45,1 %)
IV	rechtzeitig	10 (14,1 %)
V	Amniotomie	13 (18,3 %)
VI	verspätet, sog. Glückshaube	1 (1,4 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	33,3 ± 17,7	41,1 ± 8,3	356,3 ± 112,9
II	36,8 ± 16,6	86,0 ± 48,5	283,8 ± 94,2
III	42,0 ± 21,7	75,8 ± 29,8	315,2 ± 106,3
IV	38,4 ± 12,5	62,9 ± 25,7	377,0 ± 153,3
V	30,1 ± 14,4	56,8 ± 31,1	305,0 ± 68,6
VI	42,1	42,5	424,2

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,19 ± 0,09	0,05 ± 0,004	0,06 ± 0,01
II	0,12 ± 0,06	0,07 ± 0,05	0,04 ± 0,02
III	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
IV	0,17 ± 0,07	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,03
V	0,10 ± 0,06	0,04 ± 0,02	0,04 ± 0,01
VI	0,10	0,03	0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,53 ± 1,19	1,03 ± 0,13	2,32 ± 1,70
II	1,36 ± 0,75	1,55 ± 1,16	2,20 ± 0,85
III	1,50 ± 0,66	1,86 ± 0,93	2,04 ± 0,60
IV	1,58 ± 0,56	1,36 ± 0,65	2,52 ± 1,18
V	1,10 ± 0,48	1,38 ± 0,99	2,04 ± 0,75
VI	2,01	1,52	3,22

In Tab. 27 konnten in der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen II bis V keine Unterschiede nachgewiesen werden.
Wegen der geringen Fallzahlen ist bezüglich der Merkmalsgruppen I und VI keine statistische Aussage möglich.

Tab. 28 : Fruchtwasserbefund (n = 71).

	Fruchtwasserbefund	Anzahl der Fälle
I	klar	63 (88,7 %)
II	milchig-trüb	3 (4,2 %)
III	gelb-grün	5 (7,1 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	37,6 ± 18,7	70,6 ± 35,6	308,5 ± 98,6
II	41,3 ± 21,5	61,5 ± 34,4	365,2 ± 24,1
III	42,8 ± 15,1	80,6 ± 17,2	423,0 ± 182,2

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,13 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,09 ± 0,08	0,03 ± 0,003	0,04 ± 0,01
III	0,10 ± 0,07	0,06 ± 0,02	0,06 ± 0,04

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,41 ± 0,65	1,60 ± 0,95	2,11 ± 0,74
II	1,15 ± 0,57	1,48 ± 0,80	2,24 ± 1,06
III	1,66 ± 0,72	1,89 ± 1,12	2,80 ± 1,30

In Tab. 28 konnten in der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen I und III keine Unterschiede nachgewiesen werden.
Wegen der geringen Fallzahl ist bezüglich der Merkmalsgruppe II keine statistische Aussage möglich.

Tab. 29: Dauer der Eröffnungsperiode (n = 66).

	Dauer (min)	Anzahl der Fälle
I	50 - 239	21 (31,8 %)
II	240 - 419	24 (36,4 %)
III	420 - 989	21 (31,8 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	36,4 ± 16,4	76,2 ± 39,3	359,7 ± 127,2
II	37,4 ± 21,2	61,7 ± 25,0	308,1 ± 97,6
III	40,1 ± 17,9	77,7 ± 37,3	295,0 ± 92,4

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,17 ± 0,07	0,05 ± 0,02	0,05 ± 0,01
II	0,12 ± 0,07	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
III	0,11 ± 0,06	0,06 ± 0,02	0,04 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,42 ± 0,62	1,83 ± 1,13	2,21 ± 1,00
II	1,40 ± 0,68	1,55 ± 0,87	2,17 ± 0,71
III	1,42 ± 0,66	1,54 ± 0,78	2,17 ± 0,63

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 30: Dauer der Austreibungsperiode (n = 65).

	Dauer (min)	Anzahl der Fälle
I	0 - 29	41 (63,1 %)
II	30 - 59	13 (20,0 %)
III	60 - 149	11 (16,9 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	36,9 ± 19,2	69,3 ± 33,0	338,7 ± 116,1
II	33,7 ± 14,9	66,1 ± 39,4	275,7 ± 69,7
III	44,3 ± 18,2	85,6 ± 34,1	315,0 ± 106,1

	DHP A (ng/g) / Prog A (ng/g)	DHP C (ng/g) / Prog C (ng/g)	DHP P (ng/g) / Prog P (ng/g)
I	0,13 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
II	0,11 ± 0,07	0,06 ± 0,05	0,04 ± 0,01
III	0,11 ± 0,05	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,01

	DHP A (ng/g) / Prot A (mg/g)	DHP C (ng/g) / Prot C (mg/g)	DHP P (ng/g) / Prot P (mg/g)
I	1,44 ± 0,68	1,74 ± 1,04	2,26 ± 0,90
II	1,25 ± 0,57	1,40 ± 0,79	1,94 ± 0,45
III	1,50 ± 0,63	1,59 ± 0,65	2,21 ± 0,61

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 31: Dauer der Nachgeburtsperiode (n = 65).

	Dauer (min)	Anzahl der Fälle
I	2	16 (24,6 %)
II	3 - 4	35 (53,9 %)
III	5 - 19	14 (21,5 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	36,7 ± 16,4	73,3 ± 38,0	303,8 ± 95,5
II	34,3 ± 17,4	68,7 ± 36,7	332,1 ± 119,3
III	46,5 ± 20,9	76,1 ± 25,7	317,9 ± 96,3

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,12 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
II	0,13 ± 0,06	0,06 ± 0,04	0,04 ± 0,02
III	0,10 ± 0,05	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,46 ± 0,65	1,66 ± 0,84	2,17 ± 0,60
II	1,32 ± 0,63	1,52 ± 0,91	2,25 ± 0,94
III	1,60 ± 0,69	1,94 ± 1,09	2,08 ± 0,51

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 32: Blutverluste während der Geburt (n = 71)

	Blutverluste	Anzahl der Fälle
I	≤ 300 ml	59 (83,1 %)
II	> 300 ml	12 (16,9 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	36,9 ± 18,3	70,2 ± 35,1	319,9 ± 108,0
II	44,0 ± 18,1	74,5 ± 32,0	314,2 ± 107,3

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,13 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
II	0,11 ± 0,05	0,06 ± 0,05	0,05 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,39 ± 0,62	1,63 ± 0,99	2,16 ± 0,84
II	1,58 ± 0,76	1,53 ± 0,73	2,18 ± 0,59

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

5.6.4. Daten der Plazenta

Tab. 33: Plazentagewicht (n = 71).

	Plazentagewicht (g)	Anzahl der Fälle
I	420 - 549	18 (25,4 %)
II	550 - 649	29 (40,8 %)
III	650 - 799	24 (33,8 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	34,4 ± 21,4	75,1 ± 42,2	307,4 ± 97,2
II	35,1 ± 16,0	67,4 ± 34,8	319,8 ± 99,9
III	44,6 ± 17,6	72,1 ± 28,0	326,7 ± 125,2

	DHP A (ng/g) Prog A (ng/g)	DHP C (ng/g) Prog C (ng/g)	DHP P (ng/g) Prog P (ng/g)
I	0,13 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,11 ± 0,06	0,05 ± 0,02	0,04 ± 0,02
III	0,13 ± 0,06	0,06 ± 0,04	0,04 ± 0,02

	DHP A (ng/g) Prot A (mg/g)	DHP C (ng/g) Prot C (mg/g)	DHP P (ng/g) Prot P (mg/g)
I	1,24 ± 0,62	1,71 ± 1,01	1,97 ± 0,85
II	1,42 ± 0,59	1,60 ± 0,89	2,21 ± 0,73
III	1,56 ± 0,73	1,56 ± 1,01	2,25 ± 0,86

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

Tab. 34: Morphologie der Plazenta (n = 71).

	Morphologie	Anzahl der Fälle
I	ohne pathologischen Befund	44 (62,0 %)
II	Infarkte	4 (5,6 %)
III	Kalk	14 (19,7 %)
IV	Infarkte und Kalk	9 (12,7 %)

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
I	40,7 ± 18,5	72,3 ± 34,2	335,6 ± 111,1
II	27,9 ± 10,0	74,3 ± 32,6	254,7 ± 107,7
III	37,8 ± 20,7	78,5 ± 40,2	309,9 ± 110,5
IV	30,5 ± 14,8	51,1 ± 22,1	280,4 ± 67,4

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prog A (ng/g)	Prog C (ng/g)	Prog P (ng/g)
I	0,13 ± 0,05	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02
II	0,20 ± 0,09	0,05 ± 0,01	0,04 ± 0,03
III	0,10 ± 0,05	0,05 ± 0,02	0,03 ± 0,02
IV	0,08 ± 0,06	0,05 ± 0,03	0,04 ± 0,02

	DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
	Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
I	1,49 ± 0,65	1,64 ± 0,87	2,18 ± 0,87
II	1,26 ± 0,56	1,36 ± 0,43	1,83 ± 0,80
III	1,51 ± 0,76	1,86 ± 1,18	2,17 ± 0,67
IV	1,02 ± 0,39	1,22 ± 1,07	2,20 ± 0,72

In der Zuordnung der ermittelten Werte der drei Gewebearten zu den Merkmalsgruppen konnten keine Unterschiede nachgewiesen werden.

5.7. Kasuistik einer Drillingsgeburt

Bei der einzigen Mehrlingsgeburt (Fall Nr. 53) des von uns untersuchten Kollektivs handelt es sich um die Entbindung einer 26jährigen Primipara und Primigravida.
Während der Gravidität bestanden keine Allgemeinerkrankungen, der Schwangerschaftsverlauf war ebenfalls unauffällig. Präpartal wurden normale Östriol-, aber erhöhte HCS- (HPL-)Spiegel gemessen, was auf eine bedarfsgerechte Erhöhung der produktiven Leistungen der Plazenta (bei ebenfalls erhöhtem Plazentagewicht, s.u.) schließen läßt.
Die Entbindung erfolgte in der 36. Schwangerschaftswoche durch primäre Sectio caesarea, das Fruchtwasser war klar.

Tab. 48: Daten der Neugeborenen des Falles Nr. 53

	Erstgeborener ♂	Zweitgeborener ♂	Drittgeborene ♀
Gewicht (g)	1410	1940	1940
Länge (cm)	43	46	43
pH in Arteria umbilicalis	7,15	7,28	7,19
pH in Vena umbilicalis	7,20	7,32	7,24
APGAR 1 min	6	7	6
APGAR 5 min	9	9	9
APGAR 1o min	9	9	10

Tab. 48 enthält die Daten der untergewichtigen und untermaßigen Drillinge.
Die Plazenta wog 1460 g und wies Verkalkungen auf.
Die Ergebnisse der Bestimmung von 5α-DHP und Protein sowie der Berechnung der 5α-DHP-Progesteron-Quotienten und 5α-DHP-Protein-Quotienten sind in Tab. 49 aufgelistet.
Die 5α-DHP-Konzentration im Plazentagewebe ist die zweithöchste in der vorliegenden Studie.
Der Proteinwert im Chorion liegt mit 19,6 mg/g unter dem niedrigsten Wert (21,8 mg/g) der anderen Fälle des Untersuchungsgutes, gleichzeitig ist er geringer als der entsprechende Wert des Amnions, was bei den untersuchten 72 Fällen

insgesamt siebenmal zu verzeichnen ist.

Tab. 49: 5α-DHP-Werte und -Quotienten des Falles Nr. 53

DHP A (ng/g)	DHP C (ng/g)	DHP P (ng/g)
29,6	37,3	586,3

Prot A (mg/g)	Prot C (mg/g)	Prot P (mg/g)
28,7	19,6	180,8

DHP A (ng/g) / Prog A (ng/g)	DHP C (ng/g) / Prog C (ng/g)	DHP P (ng/g) / Prog P (ng/g)
0,17	0,06	0,06

DHP A (ng/g) / Prot A (mg/g)	DHP C (ng/g) / Prot C (mg/g)	DHP P (ng/g) / Prot P (mg/g)
1,03	1,90	3,24

(Abkürzungen und Erläuterungen s.S. 56)

6. DISKUSSION

Die 5α-DHP-Spiegel von unmittelbar nach der Geburt gewonnenen Gewebeproben aus der Plazenta und den Fetalen Membranen wurden in einer Stichprobe von 72 Fällen radioimmunologisch bestimmt.

Bei der für die Aufbereitung der Proben entwickelten Methode wurde auf zweierlei besonders geachtet:

Erstens wurden mit Rücksicht auf den von CSAPO (1963) postulierten und von PULKKINEN und ENKOLA (1972) bestätigten Progesteron-Konzentrationsgradienten zwischen verschieden weit von der Plazenta entfernten Stellen der Fetalen Membranen alle Proben aus vergleichbaren Regionen des Gewebes entnommen.

Das Gewebe wurde zweitens schonend und möglichst gründlich homogenisiert. Dies erscheint besonders deshalb unerläßlich zu sein, weil vermutet werden kann, daß die von verschiedenen Autoren zum Teil in unterschiedlicher Höhe gefundenen Konzentrationen bzw. Metabolisationsraten in Plazenta und Fetalen Membranen auf qualitative Differenzen der Gewebeaufbereitung und Homogenisierung zurückgehen.

So fanden DIAZ-ZAGOYA et al. (1979) die Progesteronkonzentration in der Plazenta nur etwa halb so hoch wie MILEWICH et al. (1978). Auch die Aktivität der 20α-Hydroxysteroid-Oxydoreduktase geben beide Autorengruppen unterschiedlich an: Die Beträge von MILEWICH et al. liegen um den Faktor 2 bis 3 unter denen der anderen Autoren.

Mit dem Grad der Zerkleinerung des Gewebes dürfte der erfaßte Anteil der zu messenden Substanzen zunehmen. Dies umso mehr, je zellreicher das Gewebe ist. Danach müßten die Differenzen der Meßwerte bei dem zellarmen Amnion geringer sein als beim zellreichen Chorion.

Mit der von uns angewandten Methode der Extraktion und Säulenchromatographie wurde ein 5α-DHP-Wiederfindungsgrad erreicht, der mit knapp 50 % deutlich über dem von MILEWICH et al. (1975) angegebenen Anteil liegt.

Um statistisch verwertbare Ergebnisse zu erhalten, wurde für die vorliegende Arbeit ein im Vergleich zu MILEWICH et al. (1978), DIAZ-ZAGOYA et al. (1979) und LAATIKAINEN et al.

(1981) mit Stichprobenumfängen zwischen n = 10 und n = 17 eine erheblich größere Fallzahl (n = 72) gewählt.
Allerdings war die Prüfung auf Korrelation zwischen den gemessenen Hormonwerten und klinischen Daten in einigen Fällen nicht möglich, weil das entsprechende Merkmal im gesamten Kollektiv zu selten auftrat. Es müßten im Rahmen weiterer Forschung entsprechend umfangreichere Spezialkollektive jeweils einem Normalkollektiv gegenübergestellt werden.
In der vorliegenden Studie wurde erstmalig die Konzentration des 5α-DHP im Gewebe der Fetalen Membranen und der Plazenta betrachtet. Bei teilweise erheblicher Streuung der Werte liegen die 5α-DHP-Spiegel im Amnion im Mittel bei 38,1 ng/g Gewebe, während im Chorion etwa zweifach und in der Plazenta etwa 10fach höhere Werte festgestellt wurden.
Im Gegensatz zu dem hiesigen Befund eines 5α-DHP-Gefälles vom Chorion zum Amnion steht der Bericht von MILEWICH et al. (1979) über eine am Graviditätsende im Chorion - verglichen mit dem Amnion - deutlich geringere, teilweise sogar nicht nachweisbare Aktivität der 5α-Reduktase. Es wäre zunächst zu erwarten, daß am Ort stärkerer Enzymaktivität (dem Amnion) auch eine höhere Produktkonzentration entsteht. Jedoch findet der 5α-Reduktionsschritt im Plazentagewebe in weit höherem Maß statt als in den Fetalen Membranen, so daß durch Diffusions- und Transportvorgänge (Schindler (1982)) entsprechend der topographischen Beziehung ein 5α-DHP-Konzentrationsgefälle Plazenta > Chorion > Amnion resultieren muß, was auch von den vorgelegten Ergebnissen bestätigt wird.
Eine weitere mögliche Erklärung der divergierenden Beobachtungen könnte in den bereits erwähnten unterschiedlichen Techniken der Gewebehomogenisierung liegen, die sich besonders im Fall des Chorion bemerkbar machen.
Zwischen den 5α-DHP-Spiegeln im Amnion und Chorion besteht eine signifikante positive Korrelation (Pearson-Koeffizient $r = 0{,}53$ / $p = 0{,}01$), was mit der Topographie und Funktion der beiden Gewebe gut in Einklang steht.
Dagegen gibt es in dieser Hinsicht weder zwischen Amnion und Plazenta noch zwischen Chorion und Plazenta eine signifikan-

te Abhängigkeit. In Bezug auf den oben dargestellten Konzentrationsgradienten für 5α-DHP in den drei Geweben erscheint diese Unabhängigkeit nur unter der Annahme einer Behinderung der Austauschvorgänge durch Bindung (Schindler (1982)), Gewebedegeneration oder andere Faktoren plausibel.
Verschiedenen Altersgruppen der Gebärenden müssen unterschiedliche Amnion-5α-DHP-Konzentrationen zugeordnet werden, wie der Kruskal-Wallis-Test mit einem p = 0,046 zeigte. Von seiten theoretischer Vorstellungen wird dieser Befund nicht gestützt. Er sollte an größeren, repräsentativen Kollektiven überprüft werden.
Eine Abhängigkeit eines der zahlreichen anderen geprüften Parameter vom 5α-DHP-Gehalt der drei untersuchten Gewebe ließ sich nicht finden.
Wegen der Unabhängigkeit des 5α-DHP von klinisch-geburtshilflichen Daten, insbesondere von Daten des Geburtsverlaufs wie Art bzw. Dauer der Geburt, Zeitpunkt des Blasensprungs und Gestationsdauer muß die der Studie zugrundegelegte Frage, ob dem 5α-Dihydroprogesteron eine wichtige Rolle bei den Geburtsauslösevorgängen zukommt, verneint werden: Zwischen Gewebeproben, die vor dem Einsetzen der Wehentätigkeit (d.h. bei primärer Sectio caesarea) und solchen, die nach Spontangeburten gewonnen wurden, zeigen sich keine einer Gesetzmäßigkeit gehorchenden Unterschiede der 5α-DHP-Spiegel in den Eihäuten oder der Plazenta.
Nach den Ergebnissen von MILEWICH et al. (1975) enthält Schwangerenplasma - unabhängig von der Phase der Gravidität - bei signifikanter Korrelation der beiden Hormone 3,6 mal weniger 5α-DHP als Progesteron.
In den hier geprüften Geweben wurden andere Relationen der beiden Steroide festgestellt: Im Amnion ist der Progesterongehalt im Durchschnitt etwa 8fach, im Chorion 20fach und in der Plazenta sogar 25fach höher als der 5α-DHP-Gehalt. Dabei ist die Schwankungsbreite der Einzelergebnisse erheblich. Während die positive Korrelation der 5α-Dihydroprogesteron- und der Progesteronkonzentration im Chorion signifikant ist, (Pearson-Koeffizient r = 0,45 / p = 0,01), erwies sich im

Amnion und in der Plazenta die Korrelation der beiden Hormone als nicht signifikant. Aus Abb. 12, S. 54 geht deutlich hervor, daß das Amnion-Testergebnis entscheidend beeinflußt worden ist durch fünf Fälle, bei denen ein extrem hoher Progesterongehalt im Amnion gefunden wurde, während die 5α-DHP-Konzentration sich in vier der fünf Fälle im mittleren Bereich bewegte.

Alle fünf Fälle wiesen Normabweichungen bei klinischen Daten oder Laborparametern auf: Fall Nr. 51 hatte gelbgrünes Fruchtwasser, Länge und Gewicht des Neugeborenen waren grenzwertig erhöht, und die Progesteronkonzentration im Chorion war niedriger als diejenige im Amnion. Letzteres gilt auch für Fall Nr. 56. Kennzeichnend für Fall Nr. 59 war ein pathologisch niedriger HCS-(HPL-)Wert sowie die höchste Amnion-5α-DHP-Konzentration in unserem Untersuchungsgut. Bei Fall Nr. 66 war außer der dritthöchsten Amnion- auch die zweithöchste Chorion-Progesteronkonzentration der untersuchten 72 Fälle zu verzeichnen. Fall Nr. 68 schließlich hatte einen unter dem Normbereich liegenden antepartalen Östriol-Spiegel und zugleich im Chorion einen geringeren Progesterongehalt als im Amnion.

Bei Ausklammern der genannten Fälle ergäbe sich zwar ein signifikanter Zusammenhang (Pearson-Koeffizient $r = 0{,}58$ / $p = 0{,}01$) zwischen 5α-DHP- und Progesteronwerten im Amnion, aber ein solches Verfahren erscheint unzulässig, weil kein gemeinsames Merkmal der fünf Fälle vorliegt, und weil sich hinsichtlich der bestehenden Besonderheiten im Untersuchungsgut Parallelen finden, bei denen aber entsprechende Extremwerte der Amnion-Progesteronkonzentration fehlen. Die Suche nach der Ursache der von KIEFER (in Vorbereitung) mitgeteilten, extrem hohen Progesteronwerte in den aufgezählten Fällen ist nicht Gegenstand der vorliegenden Arbeit, die sich mit dem 5α-DHP befaßt. Ob die 5α-Dihydroprogesteron- und die Progesteronkonzentration - in Analogie zum Chorion - im Amnion korreliert sind, kann deshalb hier nicht geklärt werden.

Aus den Resultaten der statistischen Auswertung lassen sich

Zusammenhänge der geburtshilflich-klinischen Daten mit dem Quotienten 5α-DHP : Progesteron ebensowenig ableiten wie Zusammenhänge mit dem Quotienten 5α-DHP : Protein. Eine Beziehung einer der beiden Größen zur Geburtsinduktion läßt sich in dem hier beschriebenen Kollektiv nicht erkennen.
Direkte Vergleichsmöglichkeiten für die von uns gemessenen Proteinkonzentrationen gibt es in der Literatur nicht. Lediglich für die Fetalen Membranen sind von MILEWICH et al. (1979) Proteinkonzentrationen, angegeben in mg Protein pro 0,2 ml Homogenat, von 16 Fällen aus der 33. bis 40. Schwangerschaftswoche veröffentlicht worden.
Die Umrechnung in mg Protein/g Gewebe liefert im Vergleich zu unseren Ergebnissen für das Amnion um 35% höhere, für das Chorion aber um 40% niedrigere Werte. Die Differenz im Falle des Amnion könnte die Folge nicht ganz vergleichbarer Untersuchungszeitpunkte sein: Unsere Gewebeproben stammten aus der 31. bis 44. Schwangerschaftswoche. Der Mittelwert lag beim Beginn der 41. Woche, so daß sich hier eventuell die am Graviditätsende eintretende Amniondegeneration (JIRASEK (1980)) ausgewirkt haben könnte. Die Abweichung des Chorion-Proteinwertes ist möglicherweise als Ausdruck der bereits erwähnten Unterschiede der Homogenisierungsverfahren zu verstehen.
Zur kritischen Wertung der vorgestellten Resultate muß grundsätzlich angemerkt werden, daß die Untersuchung retrospektiv und an Fällen einer Universitäts-Frauenklinik erfolgte, was unter Umständen schon im Ansatz eine Selektion des Untersuchungskollektivs beinhaltet.
Zum anderen sind die interindividuellen Umterschiede der Meßwerte relativ groß. Da die Messungen nur Momentaufnahmen eines dynamischen Prozesses darstellen, ist in den Einzelfällen ein Absinken oder Ansteigen der Hormonkonzentration in Abhängigkeit von bestimmten Charakteristika des Geburtsablaufes mit den vorgelegten Ergebnissen nicht sicher auszuschließen. Eine Untersuchung der 5α-DHP-Konzentration in der Plazenta und den Eihäuten zu verschiedenen Zeitpunkten des Schwangerschaftsendes und Geburtsvorgangs wäre theoretisch sinnvoll, ist aber praktisch nicht durchführbar.

7. ZUSAMMENFASSUNG

Mit der vorliegenden Untersuchung wurde erstmalig die Gewebekonzentration von 5α-DHP in der Plazenta und den Eihäuten zum Zeitpunkt der Geburt ermittelt. Dieses Steroid ist ein wichtiger direkter Metabolit des Progesteron, dessen Stoffwechsel in Plazenta und Fetalen Membranen eine für den Weheneintritt bedeutende Rolle spielen könnte.

Die Gewebekonzentration von 5α-DHP in unmittelbar nach der Entbindung gewonnenen Präparaten der Plazenta und der Fetalen Membranen wurde in 72 Fällen radioimmunologisch bestimmt. Die dazu entwickelten Methoden für Gewebehomogenisierung, Hormonextraktion, säulenchromatographische Trennung und Radioimmunassay wurden ausführlich beschrieben. Gleichzeitig wurde der Proteingehalt der Proben gemessen.

Die durchschnittlichen 5α-DHP-Konzentrationen betrugen im Amnion 38,1 ± 18,4 ng/g, im Chorion 70,9 ± 34,4 ng/g und in der Plazenta 319,0 ± 107,2 ng/g. Die Relation der Konzentrationen lag damit etwa bei 1 : 2 : 8. Signifikant korreliert waren nur die Spiegel von Amnion und Chorion.

Bei einem Verhältnis von ungefähr 1 : 2 : 6 belief sich der Proteingehalt auf 27,9 ± 9,0 mg/g Amnion, auf 50,3 ± 21,3 mg/g Chorion bzw. auf 153,7 ± 38,3 mg/g Plazenta.

Eine Korrelation zwischen 5α-DHP- und Proteinkonzentration bestand in keinem der drei Gewebe.

Die Ergebnisse eines parallel von KIEFER (in Vorbereitung) durchgeführten Progesteron-Radioimmunassay wurden mit den 5α-DHP-Werten verglichen. Während sich die Spiegel der beiden Hormone in Amnion und Plazenta als unabhängig erwiesen, waren sie im Chorion signifikant korreliert.

Um die Abhängigkeit des 5α-DHP von Daten des Schwangerschafts- und Geburtsverlaufs zu prüfen, wurden die Meßwerte einer Reihe von wichtigen klinischen Parametern gegenübergestellt.

Zwischen Altersgruppen der Gebärenden konnten mit dem Kruskal-Wallis-Test tendenziell Unterschiede der Amnion-5α-DHP-Konzentration nachgewiesen werden. Ansonsten lieferten die Resultate der Studie keinen Anhalt für einen Zusammenhang zwischen dem 5α-DHP-Spiegel in Eihäuten bzw. Plazenta und geburtshilflichen Daten.

Insbesondere auf eine Beteiligung des 5α-DHP in den Fetalen Membranen und der Plazenta an der Induktion der Wehentätigkeit gab es keine Hinweise, da zwischen Fällen von primärer Sectio caesarea und Spontangeburten kein Unterschied bezüglich der 5α-DHP-Gewebespiegel bestand.

Eine Abhängigkeit der auf den Proteingehalt bezogenen 5α-DHP-Werte von Parametern des Geburtsverlaufs fand sich in keinem der drei Gewebe.

8. LITERATURVERZEICHNIS

ABRAHAM,G.E.:
Radioimmunassay of steroids in biological materials.
Acta endocrinologica Copenhagen Suppl. 183, Vol. 75 (1974).

BECKER,V., SCHIEBLER,T.H., KUBLI,F. (Hrsg.):
Die Placenta des Menschen.
Stuttgart, New York (1981).

BEDFORD,C.A., CHALLIS,J.R.G., HARRISON,F.A., HEAP,R.B.:
The role of oestrogens and progesterone in the onset of parturition in various species.
J. Reprod. Fert., Suppl. 16, 1-23 (1972).

BEDIN,M., FERRE,F., ALSAT,E., CEDARD,L.:
Regulation of steroidogenesis in the human placenta.
J. Steroid Biochem. 12, 17-24 (1980).

BERGMANN,R., BERGMANN,K., KOLLMANN,F., MAASER,R., HÖVELS,O.:
Wachstum. Atlas.
Wiesbaden (1977).

CLARK,J.H., PECK,E.J.:
Female sex steroids. Receptors and function.
Monographs on endocrinology (Editors: GROSS,F., LABHART,A., MANN,T., SAMUELS,L.T., ZANDER,J.) Vol. 14,
Berlin, Heidelberg, New York (1979).

COHEN,S.L., MARIAN,G.F., WATSON,M.:
Excretion of oestrin during pregnancy.
Lancet 228^{1}, 674-676 (1935).

CSAPO,A.I.:
Progesterone-block.
Amer. J. Anat. 98, 273-291 (1956).

CSAPO,A.I.:
Initiation of labor.
In: MARSHALL,J.M.: Public Health Service Publication No. 1390. U.S. Government Printing Office, Washington, D.C. (1963).
Zitiert nach: PULKKINEN,M.O., ENKOLA,K.:
The progesterone gradient of the human fetal membranes.
Int. J. Gynecol. Obstet. 10, 93-94 (1972).

CSAPO,A.I.:
The "see-saw" theory of parturition.
CIBA Foundation Symp. 47, 159-210 (1977).

DANCIS,J.:
The placenta: An overview.
In: STAVE,U. (Editor): Perinatal physiology.
New York (1978).

DIAZ-ZAGOYA,J.C., WIEST,W.G., ARIAS,F.:
20α-Hydroxysteroid oxidoreductase activity and 20α-dihydroprogesterone concentration in human placenta before and after parturition.
Am. J. Obstet. Gynecol. 133, 673-676 (1979).

DICZFALUSY,E.:
Endocrinology of the foetus.
Acta obstetricia et gynecologica skandinavica 41 (Suppl. 1), 45 (1962).

FERRE,E., JANSSENS,Y., TANGUY,G., BREUILLER,M., DE PARIENTE,D., CEDARD,L.:
Steroid concentrations in human myometrial and placental tissues at week 39 of pregnancy.
Am. J. Obstet. Gynecol. 131, 500-502 (1978).

GANT,N.F., MILEWICH,L., CALVERT,M.E., MacDONALD,P.C.:
Steroid sulfatase activity in human fetal membranes.
J. Clin. Endocrinol. Metab. 45, 965-972 (1977).

GIBB,W., LAVOIE,J.-C., ROUX,J.:
In vitro conversion of pregnenolone to progesterone by term human fetal membranes.
Am. J. Obstet. Gynecol. 136, 631-634 (1980).

GIBBENS,G.L.D., CHARD,T.:
Observations on maternal oxytocin release during human labor and the effect of intravenous alcohol administration.
Am. J. Obstet. Gynecol. 126, 243-246 (1976).

GRELLA,P., ZANOR,P.:
Premature labor and indomethacin.
Prostaglandins 16, 1007-1017 (1978).

GUSTAVII,B.:
Labor: A delayed menstruation?
Lancet II^2, 1149-1150 (1972).

GUSTAVII,B.:
Release of lyosomal acid phosphatase into the cytoplasm of decidual cells before the onset of labor in humans.
Br. J. Obstet. Gynaec. 82, 177-181 (1975).

HIPPOKRATES:
De natura pueri.
In: HIPPOKRATES: Opera omnia (Hrsg.: LITTRE,E.), Bd. 7, 534, Amsterdam (1962).

HOFF,F., BAYER,R.:
Zum Mechanismus des Geburtseintritts.
Zbl. Gynäk. 75, 1-11 (1953).

JIRASEK,J.E.:
Human fetal endocrinies.
Developments in obstetrics and gynecology, Vol. 1,
The Hague, Boston, London (1980).

JUNG,H.:
Erregungsleitung und Erregungsbildung am Uterus.
Z. Geburtsh. Gynäk. 147, 51 (1956).

JUNG.H.:
Zur Physiologie und Klinik der hormonalen Uterusregulation.
Fortschritte der Geburtshilfe und Gynäkologie Vol. 22,
Bibliotheca Gynaecologica Fasc. 33, Basel, New York (1965).

JUNG,H.:
Ursachen des Geburtseintritts.
In: KÄSER,O., FRIEDBERG,V., OBER,K., THOMSON,K.,
ZANDER,J. (Hrsg.): Gynäkologie und Geburtshilfe. Bd. II, 2,
Stuttgart, New York (1981).

KIEFER, M.:
Radioimmunologische Bestimmung von Progesteron in der Plazenta und in den Fetalen Membranen.
Med. Diss., Tübingen (in Vorbereitung).

KLOPPER, A.:
Placental metabolism.
In: HYTTEN,F., CHAMBERLAIN,G., (Editors): Clinical Physiology in Obstetrics, Oxford (1980).

KNAUS,H.H.:
Zur Ursache des Geburtseintritts.
Münch. med. Wschr. 75, 553-556 (1928).

KNAUS,H.H.:
Der Eintritt der Geburt.
I. Teil: Zbl. Gynäk. 90, 7-30 (1968).
II.Teil: Zbl. Gynäk. 90, 49-62 (1968).

KREYSZIG,E.:
Statistische Methoden und ihre Anwendungen.
Göttingen (1975).

LAATIKAINEN,T., PESONEN,K., PELKONEN,J.:
Quantification of progesterone and 20α-dihydroprogesterone in human placenta and fetal membranes.
J. Steroid Biochem. 14, 519-522 (1981).

LABHART, A.:
Klinik der inneren Sekretion.
Berlin, Heidelberg, New York (1978).

LAUZON,S. DE, CITTANOVA,N., DESFOSSES,B., JAYLE,M.F.:
$CR_{1\ ng}$, a new approach for quantitative evaluation of cross-reactivity of steroids with an antiserum in radioimmunassay.
In: GUPTA,D. (Editor): Radioimmunassay of steroid hormones.
S. 73-79, Weinheim (1980).

LIGGINS,G.C., FORSTER,C.S., GRIEVES,S.A., SCHWARTZ,A.L.:
Control of parturition in man.
Biol. Reprod. 16, 39-56 (1977).

LOWRY,O.H., ROSEBROUGH,N.J., FARR,A.L., RANDALL,R.J.:
Protein measurement with folin phenol reagent.
J. Biol. Chem. 193, 265-275 (1951).

MacDONALD,P.C., PORTER,J.C., SCHWARZ,B.E., JOHNSTON,J.M.:
Initiation of parturition in the human female.
Seminars in Perinatology 2, 273-286 (1978).

McKERNS,K.W.:
Steroid hormones and metabolism.
New York (1969).

MILEWICH,L., GOMEZ-SANCHEZ,C., MADDEN,J.D., MacDONALD,P.C.:
Isolation and characterization of 5α-pregnane-3,20-dione and progesterone in peripheral blood of pregnant women. Measurement throughout pregnancy.
Gynecol. Invest. 6, 291-306 (1975).

MILEWICH,L., GANT,N.F., SCHWARZ,B.E., PROUGH,R.A., CHEN,G.T., ATHEY,B., MacDONALD,P.C.:
Initiation of human parturition. VI. Identification and quantification of progesterone metabolites produced by the components of the human fetal membranes.
J. clin. Endocrinol. Metab. 45, 400-411 (1977[1]).

MILEWICH,L., GANT,N.F., SCHWARZ,B.E., CHEN,G.T., MacDONALD, P.C.:
Initiation of human parturition. VII. Partial characterization of progesterone metabolizing enzymes of human amnion and chorion laeve.
J.Steroid Biochem. 11, 1577-1582 (1979).

MILEWICH,L., GANT,N.F., SCHWARZ, B.E., CHEN,G.T., MacDONALD, P.C.:
Initiation of human parturition. VIII. Metabolism of progesterone by fetal membranes of early and late human gestation.
Obstet. Gynecol. 50, 45-48 (1977[2]).

MILEWICH,L., GANT,N.F., SCHWARZ,B.E., CHEN,G.T., MacDONALD, P.C.:
Initiation of human parturition. IX. Progesterone metabolism by placentas of early and late human gestation.
Obstet. Gynecol. 51, 278-280 (1978).

MÜLLER,H.A.:
Die Wehenbereitschaft des Uterus.
Geburtshilfe und Frauenheilkunde 18, 373-378 (1958).

MURPHY,B.E.P.:
Does the human fetal adrenal play a role in parturition?
Am. J. Obstet. Gynecol. 115, 521-525 (1973).

NOVY,M.J., LIGGINS,G.C.:
Role of prostaglandins, prostacyclin and thromboxanes in the physiologic control of the uterus and in parturition.
In: HEYMANN,M.A. (Editor): Prostaglandins in the perinatal period. Their physiologic and clinical importance,
New York (1980).

PULKKINEN,M.O., ENKOLA,K.:
The progesterone gradient of the human fetal membranes.
Int. J. Gynecol. Obstet. 10, 93-94 (1972).

RUNNEBAUM,B., RUNNEBAUM,H., STÖBER,I., ZANDER,J.:
Progesterone, 20α-dihydroprogesterone and 20β-dihydroprogesterone levels in different compartments from the human foeto-placental unit.
Acta endocrinologica 80, 558-568 (1975^{1}).

RUNNEBAUM,B., STÖBER,I., ZANDER,J.:
Progesterone, 20α-dihydroprogesterone and 20β-dihydroprogesterone in mother and child at birth.
Acta endocrinologica 80, 569-576 (1975^{2}).

SCHINDLER,A.E.:
Hormones in human amniotic fluid.
Monographs on endocrinology (Editors: GROSS,F., LABHART,A., MANN,T., SAMUELS,L.T., ZANDER,J.) Vol. 21,
Berlin, Heidelberg, New York (1982).

SCHUBERT,K., SCHADE,K.:
Placental steroid hormones.
J.Steroid Biochem. 8, 359-365 (1977).

SCHWARZ,B.E., MILEWICH,L., JOHNSTON,J.M., PORTER,J.C., MacDONALD,P.C.:
Initiation of human parturition. V. Progesterone binding substance in fetal membranes.
Obstet. Gynecol. 48, 685-689 (1976).

SCHWARZ, B.E., MILEWICH,L., GANT,N.F., PORTER, J.C., JOHNSTON,J.M., MacDONALD, P.C.:
Progesterone binding and metabolism in human fetal membranes.
Annals N.Y. Acad. Sciences 286, 304-312 (1977).

SEMM,K.:
Das Wehenproblem unter besonderer Berücksichtigung des Oxytocin-Oxytocinase-Haushaltes.
Beiheft 2 zur Zeitschrift für Geburtshilfe und Frauenheilkunde 154 (1960).

SHARMA,S.C., HIBBARD,B.M., HAMLETT,J.D., FITZPATRICK,R.J.:
Prostaglandin F2α concentrations in peripheral blood during the first stage of normal labor.
Brit. Medical Journal 114/1, 709-711 (1973).

SMYTH, C.N.:
The concept of uterine irritability and its clinical applications, exemplified by the oxytocin sensitivity test.
In: Fortschritte der Geburtshilfe und Gynäkologie, Bd. 7, 71-79, Bibliotheca Gynnaecologica Fasc. 47, Basel, New York (1958).

TANNICH,E.:
Radioimmunologische Bestimmung von 5α-Pregnan-3,20-dion und Progesteron im arteriellen und venösen Nabelschnurblut.
Med. Diss. Tübingen (1983).

THAU,R.B., LANMAN,J.T.:
Endocrinological aspects of placental function.
In: GRUENWALD,P. (Editor): The placenta and its maternal supply line effects of insufficiency on the fetus.
Edinburgh (1975).

TURNBELL,A.C., ANDERSON,A.B.M., FLINT,A.P.F., JEREMY J.Y., KEIRSE,M.J.N.C., KEIRSE,M.D.:
Human parturition.
CIBA Foundation Symp. 47, 427-460 (1977).

WARKENTIN,B.:
Die physiologischen Steuerungsmechanismen der Geburt.
München, Wien, Baltimore (1980).

WESTPHAL,U.:
Steroid-protein interactions.
Monographs on endocrinology (Editors: GROSS,F., LABHART,A., MANN,T., SAMUELS,L.T., ZANDER,J.) Vol. 4, Berlin, Heidelberg, New York (1971).

LEBENSLAUF

Am 17. Dezember 1953 wurde ich, Theodor Albrecht Dietrich Böhme als Sohn des Dr. med. vet. Christian-Friedrich Böhme und seiner Ehefrau Emma Veronika, geb. Zollmann in Eberswalde geboren.

Von 1960 bis 1964 besuchte ich die Volksschule in Pößneck/Thüringen, Oberstenfeld/Württemberg, Karlsruhe und Wiesbaden, anschließend das humanistische Dilthey-Gymnasium in Wiesbaden, wo ich am 5. Juni 1972 die Allgemeine Hochschulreife erlangte.

Von 1973 bis 1974 leistete ich Zivildienst im Krankentransport und Unfallrettungsdienst in Wiesbaden.

Im Wintersemester 1974/75 begann ich in Koblenz ein Lehramtsstudium in den Fächern Sport und Grundschulpädagogik, das ich im Sommersemester 1975 an der Johann Wolfgang von Goethe-Universität in Frankfurt/Main fortführte.

Von November 1975 bis Juni 1977 war ich in den Städtischen Kliniken in Wiesbaden als Krankenpflegehelfer tätig.

Im Sommersemester 1978 nahm ich an der Johann Wolfgang von Goethe-Universität in Frankfurt/Main das Studium der Humanmedizin auf und legte dort am 18. März 1980 die Ärztliche Vorprüfung ab.

Zur Fortsetzung des Studiums wechselte ich im April 1980 an die Eberhard-Karls-Universität in Tübingen, wo ich am 26. März 1981 den ersten Abschnitt und am 18. März 1983 den zweiten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung bestand.

Das Praktische Jahr absolvierte ich am Städtischen Krankenhaus in Friedrichshafen/Bodensee. Dort schloß ich am 22. Oktober 1984 mit dem dritten Abschnitt der Ärztlichen Prüfung mein Medizinstudium ab.

Die Approbation als Arzt erhielt ich am 29. Oktober 1984 .